ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME VII *N° 2* *JUIN 1934*

MÉMOIRES ORIGINAUX

RACES D'*A. maculipennis* EN ROUMANIE

RAPPORT SUR UN VOYAGE D'ÉTUDE EFFECTUÉ A TRAVERS LA ROUMANIE PENDANT LES MOIS D'AOUT ET DE SEPTEMBRE 1933

(Sous les auspices de l'Organisation d'Hygiène de la Société des Nations)

par

Professeurs **MARTINI** et **ZOTTA**

B. XXIII

I. — *MISSION ET INTERPRÉTATION DE CETTE MISSION*

Nous avons estimé que notre mission consistait à étudier, premièrement, la répartition géographique, en Roumanie, des races définies au cours des dernières années par l'analyse de l'espèce « *Anophèles maculipennis* » (1) et, deuxièmement, si ces races et leurs habitudes sont de nature à expliquer certains traits caractéristiques de la distribution géographique du paludisme dans ce pays, c'est-à-dire si, en Roumanie, la présence et la répartition des races d'*Anophèles maculipennis* peuvent expli-

(1) MISSIROLI, HACKETT et MARTINI : *Rivista di Malariol.*, 12, 1933, p. 1.

quer en partie les irrégularités que l'on constate dans la répartition du paludisme.

Etant donné qu'il n'était évidemment pas possible à deux personnes de remplir cette tâche pour tout l'ensemble du pays, surtout dans un temps limité, on nous avait désigné comme ayant besoin d'être étudiées d'urgence, les régions de la Roumanie dans lesquelles la lutte contre le paludisme avait été menée avec le plus d'énergie et où, notamment, l'un de nous, par des recherches approfondies poursuivies pendant plusieurs années avec ses collaborateurs, avait découvert des conditions particulièrement remarquables, grâce auxquelles on parle aujourd'hui d'un problème du paludisme des deltas.

En outre, nous avons considéré qu'il nous incombait aussi d'apporter notre contribution à l'étude des questions générales concernant les causes de la répartition des races d'*Anophèles maculipennis* et de déterminer avec certitude, pour divers centres importants de lutte contre le paludisme, par exemple pour l'hôpital psychiatrique de Socola, quelles étaient les races utilisées pour les essais. Enfin, si le temps dont nous disposions le permettait, nous avions l'intention d'étudier, au point de vue de la composition de la faune anophélienne, certaines localités qui n'étaient pas indiquées dans notre ordre de mission, mais où la fréquence du paludisme semblait exiger une telle étude.

Nous avons considéré qu'il ne rentrait dans le cadre de notre mission actuelle ni de procéder à des investigations techniques sur la fréquence du paludisme dans des régions quelconques, ni de nous livrer à des vérifications personnelles, ni surtout de critiquer les résultats des collègues qui travaillent sur le terrain. Les données sur le paludisme dont nous avons eu besoin ont été utilisées par nous telles qu'elles nous ont été fournies par les services locaux.

On estimera peut-être qu'il est singulier que nous n'ayons pas profité de cette belle occasion pour poursuivre des recherches dans le sens indiqué dans la publication de Martini et Teubner (1). Il est hors de doute que des mensurations micro-climatologiques auraient pu permettre de faire maintes constatations intéressantes. Toutefois, ces résultats auraient toujours eu un caractère fortuit. L'observation des conditions micro-climatologiques des locaux dans lesquels nous avons capturé des mous-

(1) Martini et Teubner : *Beihefte z. Arch. f. Schiffs-und Tropenhygiene*, 37, 1933, p. 1.

tiques n'aurait constitué que des sondages et aurait toujours été plus ou moins fortuite, par suite de l'influence de l'heure et de la température. Ce n'est que lorsque nous connaîtrons mieux les lois de l'évolution micro-climatologique dans des locaux fermés qu'il nous sera possible d'utiliser de telles observations isolées pour ces études. En Roumanie, nous ne disposions pas d'instruments. Il est vrai que les services compétents nous auraient prêté le concours le plus large si nous en avions exprimé le désir, mais nous n'aurions pas disposé du temps nécessaire pour obtenir les séries d'observations et les résultats indispensables à une telle étude. En effet, pour réaliser des progrès dans ce domaine, il faudrait examiner toujours un grand nombre d'immeubles et d'étables et choisir précisément ceux qui présentent la plus forte et la plus faible densité de faune anophélienne, et y procéder à des mensurations. Or, le temps nécessaire nous faisait totalement défaut.

Etant donné que nous étions chargés en toute première ligne de déterminer les caractères essentiels de la zoographie des races d'*Anophèles maculipennis,* il convenait d'étudier un nombre aussi important que possible de régions présentant des différences au point de vue orohydrographique, tout en examinant chacune de ces régions d'une manière assez approfondie. Une période de six semaines était déjà presque insuffisante pour ce travail, et si on ne nous avait pas prêté fréquemment un concours éclairé, nous n'aurions pas pu atteindre le but que nous nous étions proposé.

Nous saisissons donc l'occasion d'exprimer ici nos remerciements les plus vifs à M. le Ministre de la Santé publique, M. R. R. Joanitescu, qui nous a considérablement facilité le voyage et les études en mettant très aimablement à notre disposition les organisations de l'administration sanitaire des régions dans lesquelles nous avons poursuivi notre enquête. Nous exprimons également notre reconnaissance profonde pour l'accueil chaleureux et bienveillant qui nous a été réservé à l'Institut Cantacuzène, dont le directeur a mis à notre disposition tout le matériel, l'outillage et le personnel qui nous étaient nécessaires. Outre le directeur de l'Institut, le professeur J. Cantacuzène, nous remercions avant tout son suppléant, M. le professeur Jonescu Mihaiesti.

Nous exprimons également notre profonde gratitude pour l'aide, l'hospitalité et les renseignements qui nous ont été fournis par les personnalités suivantes : M. le docteur Ballif, à Socola ; M. le professeur Balteanu et M. le docteur Alexa, à Jassy; M. le

professeur Mezincescu et ses collaborateurs scientifiques, parmi lesquels nous mentionnerons avant tout M. le docteur Cornelson, à Gurbănesti; M. le docteur Mazare, à Tulcea; M. le docteur Marcu, à Galatz; M. le médecin général docteur Panaitescu et M. le docteur Stanescu, à Soulina.

M^lle V. Nicolau et M^lle Maria Jordan, à Bucarest ; la doctoresse Chelarescu, à Socola, et nos collègues, MM. Lupascu et Urzica, au cours de certains de nos voyages, nous ont épargné beaucoup de travail pénible, en assurant, avec le plus grand soin et avec une parfaite habileté, l'isolement et la surveillance de nos anophèles. A toutes ces personnalités et à beaucoup d'autres, dont nous ne pouvons mentionner ici les noms, nous adressons l'expression de notre profonde reconnaissance. C'est la collaboration de toutes ces personnalités qui, dans une large mesure, nous a permis de réunir dans un aussi bref délai la documentation que nous avons l'honneur de soumettre ci-après.

Nous avons néanmoins dû renoncer à visiter certaines régions intéressantes au point de vue zoogéographique, par exemple toute la région des Carpathes, ainsi que les régions salines de l'intérieur du pays. D'après l'incidence du paludisme dans ces zones, la portée pratique de telles recherches n'aurait pas correspondu à leur intérêt théorique. Dans ces conditions, nous avons réservé tout notre temps à l'accomplissement de notre tâche principale.

Les autres observations concernant la vie et les habitudes des moustiques ont donc été recueillies à titre accessoire, dans la mesure où ces études ne gênaient pas notre travail principal. Il appartiendra aux savants roumains de donner suite un jour aux suggestions qui se dégagent de ces constatations, en ce qui concerne l'exécution de certaines recherches orientées dans un sens déterminé.

Pour ce qui est de la faune des moustiques en Roumanie, on trouve certaines indications dans un travail intitulé « Etudes sur le paludisme dans le delta du Danube » (1). La publication plus ancienne de Léon, « Studii asupra Culicidelor din Romania », peut être considérée comme vieillie et comme étant de nature à induire parfois en erreur le lecteur. Outre les renseignements contenus dans le travail sus-mentionné, on peut encore trouver à la Section parasitologique (professeur Zotta) de l'Institut Cantacuzène, sous forme de collections et de notes, une documentation abondante sur les moustiques.

(1) Zotta, dans *Arch. roum. de Pathologie expérim.*, V, 1932, p. 133.

Nous ne faisons pas mention du rapport présenté par Zotta à la Société des Nations, en 1927, supposant qu'il est connu. Nous n'avons rien trouvé à changer ou à corriger aux données antérieures, lorsqu'il nous a été possible de les vérifier au cours de nos recherches effectuées cette année (1933).

II. — *ITINÉRAIRE*

La mission dont nous avions été chargés par la Société des Nations comprenant un certain nombre de régions à visiter, nous avions envisagé d'examiner en premier lieu le delta du Danube. En effet, la question de savoir pour quelle raison la fréquence du paludisme dans ce delta est relativement faible a constitué manifestement le point de départ des considérations qui ont abouti à notre travail. Les fortes précipitations survenues en juillet dans la région des Carpathes avaient cependant grossi le Danube dans des proportions telles que, d'après des nouvelles reçues de la région deltaïque, la circulation sur les routes était exceptionnellement difficile. Pour cette raison, nous avons décidé de terminer notre travail par l'étude de cette région. D'autre part, comme on l'a indiqué, nos enquêtes ont débordé le cadre fixé par la Commission du Paludisme, dans la mesure où le temps disponible nous l'a permis. En effet, on a jugé opportun, d'une part, d'examiner, au point de vue de leur faune anophélienne, un certain nombre de localités où l'indice splénique était particulièrement élevé (gouvernement de Vlasca), et, d'autre part, l'expérience que nous avons acquise dans le delta du Danube nous a prouvé que la répartition des races en Roumanie ne pouvait être comparée avec celle des autres pays où l'on a procédé, jusqu'à présent, à des études approfondies sur ce point, à savoir l'Italie, l'Allemagne, les Pays-Bas et le Danemark, que si l'on examinait, outre le delta du Danube, une partie du littoral. A cet effet, nous avons choisi la région de Constantza. Au point de vue purement zoogéographique, il aurait probablement été très instructif de pousser également les investigations jusqu'aux zones salines d'Amara, ainsi que jusqu'aux contreforts méridionaux et aux régions élevées des Carpathes, peut-être même jusqu'à la Transylvanie. Toutefois, dans toutes ces régions, le paludisme ne joue pas un rôle important et le temps prévu ne nous a plus permis de faire ces voyages.

Après nos investigations dans la région de Constantza, l'un

d'entre nous (le professeur Martini) s'est rendu à Sofia pour y prendre livraison de collections de moustiques venues de Bourgas. Nous avons ainsi pu comparer la composition de la faune dans la région du littoral, près de Constantza, avec celle de la faune d'une autre partie du littoral, celle de Bourgas, qui est située à environ 2 degrés de latitude plus au midi et au sud des Balkans.

Notre itinéraire a donc été le suivant: nous avons commencé par des recherches en Moldavie, aux environs de Jassy; elles ont été suivies d'investigations dans les environs de Gurbânesti, puis nous

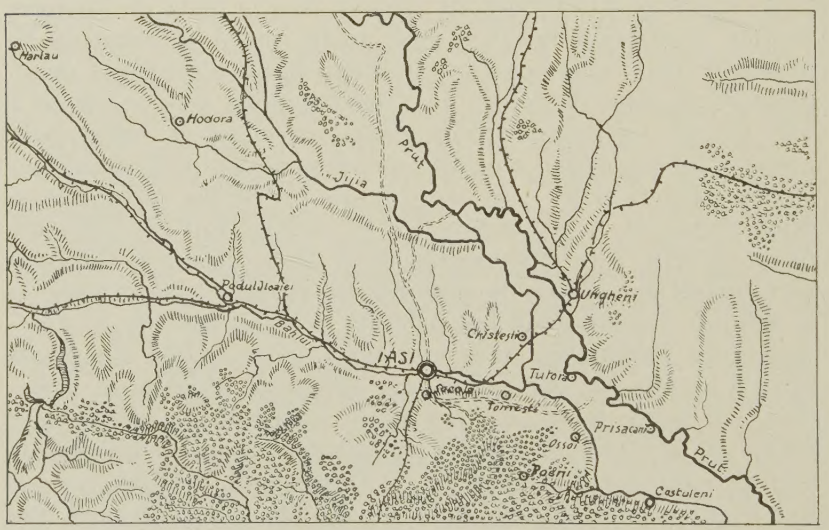


Fig. 1.

avons examiné la région du Danube et du Pruth, près de Braïla et jusqu'à la mer Noire. Ensuite, nous avons capturé des moustiques dans la région de Vlasca et enfin à Constantza (planche I).

Dans le détail, notre travail a été organisé comme suit :

4-6 août. — Bucarest, travail à l'Institut Cantacuzène ; ce dernier était notre principal centre de travail, auquel nous sommes toujours revenus.

7-15 août.— Moldavie.— 7 et 8 août : Socola; étude des proches environs et travaux au laboratoire de la station de malariathérapie, qui a été notre centre de travail en Moldavie. 9 août : Tomesti, Ossoi. 10 août : Cristești, laboratoire de Socola. 11 et

12 août : Prisacani, Costuleni. 13 août : Socola. 14 août : Hodora, Podul-Iloaei. 15 août : Socola ; installations sanitaires à Jassy, Poeni.

16-17 août. — Bucarest, travail à l'Institut Cantacuzène.

18-23 août (région de Gurbânesti; notre centre de travail a été la station de malariathérapie à Gurbănesti). — 18 août : laboratoire de Gurbănesti, Obilesti. 19 août : Brâncoveni, Sarulesti, Suliman. 20 août : laboratoire de Gurbănesti; le soir, études sur les moustiques dans la vallée de la Mostistea. 21 août : Preasna, laboratoire de Gurbănesti; le soir, même travail que le 20 août. 22 août : Gurbănesti, Coțofeanca. 23 août : Ulmeni, Chirnogi. 24-25 août : Bucarest, travail à l'Institut Cantacuzène. 26 août : voyage à Braïla.

27 août - 7 septembre, Vallée inférieure du Danube et du Pruth. — 27 août : Jijila. Vacareni, Luncavita, Isaccea, Somova. 28 août : Tulcea, Ciatalchioi, Lascar-Catargiu, Ismail, Tulcea. 29 août : voyage à Soulina, où notre centre de travail a été le laboratoire d'hygiène du docteur Panaitescu, médecin général. 30 août : Soulina. 31 août : Cardon, Sfistofca, Rosetti, Letea. 1er septembre : Mille 23, sur le Danube. 2 septembre : laboratoire de Soulina. 3 septembre : Sf. Gheorghe. 4 et 5 septembre : laboratoire de Soulina et capture. 6 septembre : voyage à Galatz. 7 septembre : vallée inférieure du Pruth.

8-9 septembre. — Bucarest, travail à l'Institut Cantacuzène.

10 septembre. — Vlasca : Ghimpati, Asanaga, Naipu, Draganesti Meletie, Pueni.

11-13 septembre. — Bucarest, travail à l'Institut Cantacuzène.

14 et 15 septembre, Eforia, près de Constantza. — 14 septembre : Urluchioi, Tekir-Ghiol (Eforia). — 15 septembre : Constantza-Tabacaria, Mamaia, Navodari.

La situation géographique des endroits que nous avons étudiés ressort du croquis ci-joint (fig. 1). Jassy est situé dans une région de collines; les autres endroits se trouvent dans la plaine.

Il est nécessaire d'ajouter quelques précisions sur les conditions climatiques, car, à cet égard, les zones où nous avons fait nos observations en Roumanie diffèrent très sensiblement les unes des autres et aussi des zones où ont été recueillies les observations sur les races d'anophèles, notamment en Allemagne et aux Pays-Bas. Par comparaison avec l'Allemagne, la différence serait particulièrement sensible pour Braïla et Jassy, si l'on faisait porter la comparaison sur le déficit de saturation.

Dans l'ensemble, le climat de la Roumanie peut être considéré

comme plus sec que celui de l'Allemagne. On relève toutefois des différences notables d'une région à l'autre. C'est ainsi que le tableau I fait ressortir qu'à Bucarest (les conditions semblent être très analogues dans les zones des gouvernements d'Ilfov et de Vlasca, où nous avons procédé à nos observations), les variations annuelles de la température atteignent le maximum, de sorte que cette région a probablement le climat le plus continental. Or, les variations annuelles sont presque aussi sensibles à Galatz qui, notamment en hiver, bénéficie cependant, dans une certaine mesure, de la proximité de la mer Noire. A Soulina, on constate encore plus nettement que la grande masse d'eau contribue à tempérer le climat. Néanmoins, même dans cette dernière région, les variations annuelles sont encore considérables par comparaison avec l'Allemagne.

Le tableau II donne quelques indications sur l'état hygrométrique de l'air. Bucarest semble avoir le climat le plus sec (climat de steppe très net), alors qu'à Soulina le degré d'humidité est nettement supérieur.

Malheureusement, les chiffres ne se rapportent pas aux mêmes années et ne sont donc pas strictement comparables, mais ils semblent néanmoins fournir certains indices permettant d'apprécier les différences climatiques. En outre, on relève cette indication intéressante que la variation quotidienne moyenne entre l'humidité relative à 6 heures du matin, et à 14-15 heures, atteint 27 % à Braïla et 32 % à Bucarest. Nous pouvons donc admettre que, dans la région de Bucarest, le climat de steppe est encore plus prononcé qu'à Braïla et que le degré d'humidité de l'air est probablement plus faible même qu'à Braïla.

Dans l'ensemble, on ne se trompera pas en affirmant que, pendant les mois d'été, l'air est généralement assez sec dans la plaine et la région vallonnée de la Valachie. Une observation météorologique, que nous avons faite fréquemment, nous fournit une preuve de cette sécheresse des couches inférieures de l'atmosphère. Plusieurs jours, on a observé à une forte altitude de lourds nuages d'où la pluie tombait en stries épaisses et sombres. Or, même à une altitude relativement élevée, ces stries devenaient de plus en plus pâles et enfin tout à fait faibles et imprécises, pour disparaître complètement à une distance encore assez considérable du sol. La pluie tombant des nuages n'atteignait donc pas le sol, mais était complètement absorbée par les couches intermédiaires sèches de l'atmosphère.

TABLEAU I

	Jassy	Bucarest	Galatz	Isaccea	Soulina
Janvier	— 3,30	— 3,4	— 3,1	— 2,2	— 1
Février	— 0,5	— 0	— 0,9	— 0,2	+ 1,3
Mars	+ 3,1	+ 4,4	+ 4,1	+ 4,5	3,9
Avril	10,3	11,2	10,4	10,4	9,6
Mai	15,8	16	16,7	16,8	15,8
Juin	19,3	20,4	20,4	20,7	20,4
Juillet	21,9	23	22,5	23	22,7
Août	21	22	22,1	22,5	22
Septembre	16,6	17,8	17,3	17,4	17,7
Octobre	11.3	12,6	11,6	12,2	13.6
Novembre	3,6	4,6	4,7	5,3	6,3
Décembre	— 1,1	— 0,8	0,3	1,2	+ 1,6
Hiver	— 1,6	— 1,4	— 1,4	— 0,4	+ 0,8
Printemps	+ 9,7	+10,5	+10,5	+10,6	+ 9,6
Eté	+20,7	+21,8	+21,7	+22,1	+21,6
Automne	+10,5	+11,7	+11,5	+11,6	+12,6

TABLEAU II

Mois	Jassy		Bucarest	Galatz		Isaccea		Soulina	
	°/₀	mm.	°/₀	°/₀	mm.	°/₀	mm.	°/₀	mm.
I.	83	3,5	84	82,9	3,3	84,1	3,6	86,9	4
II.	80	3,8	79	81,9	3,9	81,8	4,1	86,6	4,5
III.	78	4,9	72	77,6	5,1	78,3	5,3	82,5	5,4
IV.	68	6,7	59	67,5	6,7	67,3	6,7	73,2	6,8
V.	70	10,2	58	65,3	9,8	65,3	9,9	71,3	10,8
VI.	70	12,2	60	67,9	12,9	66,7	13,1	72	13,3
VII.	69	14,6	54	65	13,8	64,4	14,1	70	14,5
VIII.	68	13,6	53	66,6	13,8	64,3	13,7	69,5	14,1
IX.	68	10,2	60	71,5	10.8	72	11,1	74,4	11,7
X.	77	8,3	71	78,8	8,2	80	8,6	79,6	8,9
XI.	78	5,1	78	82,3	5,6	82	5,8	82,4	6,2
XII.	83	4	86	85,8	4,4	85,9	4,8	86,9	5,2
				Moyenne annuelle :					
8 h.	83			81,9		81,9		81,1	
14 h.	64			63,8		64,1		70,2	
20 h.	76			77,4		77,1		82,8	

Les tableaux sont extraits : pour Bucarest, Constantza et Soulina, du travail de Donciu (*Buletinul Meteorologic lunar.*, septembre 1928, p. 198 et tableau I) ; pour Galatz et Isaccea, du travail d'Otetelisanu et de Dissescou (*Institut Meteorol. Central al României Memorii si Studii*, vol. I, n° 3, « Climat de la Dobroudja ») ; enfin, pour Jassy, du travail de C. Hepites (*Analele Academiei Romane*, sér. II, vol. 25, « Materiale pentre Climatologia Romaniei, XVI, Climatologia Jasilor »). Les chiffres ne sont donc pas strictement comparables. Ceux de Bucarest, de Constantza et de Soulina sont, en effet, des chiffres moyens pour la période 1896-1915 ; ceux de Galatz et d'Isaccea, par contre, pour la période

1886-1915, et les données relatives à Jassy, pour 1894-1901. Pour apprécier combien la différence peut devenir importante par suite de l'utilisation de séries annuelles différentes, nous indiquerons, d'après le relevé donné par M. Denouar pour les années 1926-1932, qu'à Soulina, la moyenne mensuelle du degré hygrométrique de l'air, pour l'ensemble de la période indiquée, s'est élevée aux chiffres ci-après. Ces chiffres sont de beaucoup supérieurs aux chiffres moyens de la période plus longue (1896-1915) :

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
1926-1933...	93	92	91	86	83	80	75	77	79	85	90	91
1896-1915...	86	86	82	73	71	72	70	72	73	79	81	86

D'une façon analogue, Hepites montre, pour Jassy, que la moyenne annuelle de la température pour la période 1894-1901, qu'il a utilisée, diffère de 1° environ de la moyenne annuelle de la température dans les premières années de la période 1880-1890.

III. — *TECHNIQUE DES INVESTIGATIONS*

La nécessité d'isoler les femelles des moustiques impose une certaine limitation du nombre de moustiques qu'on utilise. La technique de cet isolement varie.

Au laboratoire de James, on emploie une technique consistant à étourdir les moustiques en agitant le tube, puis à les jeter dans un verre de montre contenant un peu d'eau. Cette technique présente les avantages suivants : 1° Les moustiques pondent bientôt, en général avant le lendemain matin; on peut alors utiliser à nouveau les verres. 2° Les moustiques ne peuvent plus s'envoler de l'eau; il est donc inutile de les capturer et de les tuer avant l'examen des œufs ou de les transférer dans un autre récipient; le danger de fuite est très faible. 3° En règle générale, les moustiques qui n'ont pas pondu avant le surlendemain matin ne pondent plus du tout, de sorte que le verre peut être utilisé à nouveau.

Cependant, les moustiques isolés aussi vite que possible, dans des verres, immédiatement après la capture, ne pondent que faiblement pendant la première et souvent même pendant la deuxième nuit, et fréquemment la ponte n'atteint son maximum que pendant la troisième et la quatrième nuit (voir également Martini et Teubner, *loc. cit.*). Ces femelles pondent encore des

œufs après plusieurs jours. Les verres et la place où ils sont déposés sont donc occupés pendant longtemps. Cette méthode présente, par contre, l'avantage qu'un pourcentage beaucoup plus élevé de femelles pondent des œufs, ce qui est particulièrement précieux lorsque, dans une localité importante, on n'a capturé que relativement peu de moustiques. De plus en plus, on constatera la nécessité d'analyser également la faune de telles localités pauvres en moustiques. Or, 7 à 10 moustiques ne permettent pas d'étayer une analyse à peu près sûre. Nous ignorons en outre si la stimulation qu'on donne à la ponte en agitant le tube exerce absolument le même effet sur les différentes races, et les protocoles prouvent avant tout que les diverses races ne pondent pas toujours avec la même rapidité après la capture. Or, dans ces conditions, la méthode qui consiste à étourdir les moustiques en agitant le tube donnerait moins de pontes dans le cas de la race dont on capturerait habituellement un nombre particulièrement élevé (relativement) de femelles en état de gestation encore peu avancée.

La quantité d'œufs qu'on obtient d'un nombre déterminé de femelles par l'emploi de cette méthode est inférieure à la quantité que donne la méthode consistant à les isoler avec certaines précautions, mais cette différence peut évidemment être compensée par l'emploi d'un nombre plus élevé, à peu près double, de moustiques. Toutefois, dans ce cas, il n'y a plus d'économie de place, d'appareils et de temps. Nous avons donc préféré cette dernière méthode et, comme on avait constaté à Hambourg que le maximum de la ponte était obtenu dans des pots à conserves recouverts de tulle, on a renoncé entièrement aux cylindres à lampe qui constituent d'ailleurs une bonne méthode, d'une application facile.

Dans un pot à conserves, on verse environ 2 centimètres d'eau. En Roumanie, nous avons renoncé à déposer dans le pot des morceaux de liège, etc., sans qu'il en soit résulté un inconvénient sérieux. On étend sur le verre un morceau de mousseline et on tient prête une rondelle de caoutchouc. Puis, à l'aide d'un tuyau d'aspiration, on extrait des cages un moustique et on le souffle dans le verre sous la mousseline; immédiatement, un assistant fixe le caoutchouc autour du verre. Le tuyau d'aspiration est un simple tube en verre d'environ 8 millimètres de diamètre. On ferme un bout avec un petit morceau du tulle et on l'introduit dans un tuyau de caoutchouc ; en aspirant à l'extrémité du tuyau de caoutchouc, il est facile d'attirer un moustique

dans le tube, puis de souffler sous la mousseline du verre. Il faut veiller à ce que le tube ne se couvre de buée, ce qui se produit très facilement lorsque l'on souffle dans le tuyau de caoutchouc. Dans ce dernier cas, les moustiques restent collés dans le tube de verre et il est difficile de les expulser en soufflant. Ce dispositif constitue une simplification d'un modèle de Barber. Il présente l'inconvénient que le moustique aspiré est caché par le bout du tuyau en caoutchouc et qu'il est, par conséquent, impossible de vérifier si la femelle se trouve dans un état de gestation avancée ou non. Nous préférons cependant isoler, sans distinction, les moustiques petits et grands, les moustiques remplis de sang frais et les moustiques dans un état de gestation avancée, parce que nous craignons qu'en procédant à un choix quelconque nous n'introduisions dans nos statistiques une source d'erreurs. Dans les conditions indiquées, notre appareil simple donne des résultats aussi parfaits que celui de Barber.

L'isolement dans de petits tubes, qui est également un procédé de Barber, économise beaucoup de place et constitue la seule méthode qui permette d'emporter en voyage les femelles isolées et de contrôler la ponte. Nous avons fait usage de la caisse de Barber (modifiée par Hackett, de sorte que la caisse contienne un nombre de verres environ double). La caisse contient six tiroirs ayant chacun six cases dans le sens de la longueur. Dans chacune de ses cases, on dépose quatre tubes d'une longueur de 7 centimètres et d'un diamètre de 2 cm. 1/2. Entre le verre et le bouchon perforé qui ferme le tube, on intercale un petit morceau de tulle. Une bande de papier-filtre est introduite dans le tube, dans lequel le moustique est soufflé, et qui est immédiatement fermé au moyen du bouchon. Lorsque le tiroir est rempli, on introduit avec une pipette très fine de l'eau, de sorte que le papier soit bien mouillé et non seulement humide. L'eau en excédent est généralement absorbée par le tulle. Au bout de chaque case, on fixe un bouchon de cellulose qui empêche entièrement les tubes de se déplacer. Ces bouchons de cellulose sont également humectés. De cette manière, on obtient dans la caisse une humidité suffisante, faute de laquelle les bandes de papier-filtre sécheraient trop vite.

Dans ces tubes, les moustiques pondent d'une manière très satisfaisante. Il est vrai que, très souvent, j'ai constaté après quelques jours déjà une mortalité élevée, mais celle-ci est encore supérieure et atteint, après le quatrième jour déjà, des proportions considérables si l'on humecte le papier à filtrer avant d'introduire les moustiques, de sorte que ces derniers sont très fré-

quemment soufflés sur le papier humide et y restent collés. Il est vrai que beaucoup d'entre eux arrivent à se libérer. Dans le dessein d'obtenir des œufs de presque toutes les femelles, même de celles qui pondent le plus tard (l'élimination par la mort des femelles qui pondent tard peut, en effet, constituer une source d'erreurs dans la statistique), nous n'avons fait usage des caisses de Barber que lorsque les nécessités du voyage nous interdisaient d'utiliser un laboratoire permanent.

En capturant les moustiques, nous avons également appliqué le principe de la « non-sélection ». Nous avons essayé (dans les maisons) de capturer tous les anophèles qui s'y trouvaient et de les isoler ultérieurement tous ou en nombre déterminé (30 ou 60), sans faire de choix; ou, dans le cas d'une étable, nous avons procédé à la capture, généralement à plusieurs, chacun dans une partie différente, sans faire de choix et sans donner la préférence aux insectes particulièrement gros, gravides ou pleins de sang. A l'inverse, nous avons estimé que nous étions en droit de rechercher aussi les exemplaires particulièrement petits, sinon ceux-ci sont facilement négligés et ne sont que trop faiblement représentés dans la collection. Ce n'est que lors des dernières séries, lorsqu'il fallait déjà compter avec l'existence de nombreux moustiques prêts à hiverner (Constantza et environs), qu'on a essayé de capturer plutôt les moustiques gravides.

Pour transporter ces insectes, nous avons fait usage de caissettes de transport de Hambourg. Il s'agit de caissettes d'une longueur d'environ 26 cm. 1/2, d'une largeur de 14 cm. 1/2 et d'une profondeur de 10 centimètres; elles sont pourvues d'un couvercle à coulisse. Dans ces caissettes, on peut déposer trois petites cages à moustiques tendues de tulle et ayant les dimensions suivantes : 12 × 8 × 8 centimètres. Chacune d'entre elles peut recevoir utilement de 100 à 200 moustiques. Sur le support de chaque cage, on note le lieu et la date de la capture. Puis les trois cages sont couvertes d'une couche commune de cellulose mouillée. De cette manière, les moustiques sont très bien protégés, ils occupent peu de place et peuvent au besoin être expédiés par la poste immédiatement, après la fixation du couvercle au moyen d'une vis qui se trouve à l'intérieur de la caissette. Presque tous les moustiques survivent dans ces caissettes à un transport par la poste d'une durée d'un ou de deux jours.

Même dans notre laboratoire, nous avons souvent laissé les moustiques dans ces caissettes pendant une ou deux nuits. Cette méthode présente l'avantage qu'immédiatement après, les mous-

tiques sont le plus souvent prêts à pondre dans les verres, alors que très peu de moustiques pondent ainsi lorsqu'ils sont nouvellement isolés. De cette manière, on économise donc de la place et des verres. Il n'est pas étonnant que les anophèles qui viennent d'être isolés ne pondent pas dans les verres du laboratoire. En effet, dans d'autres conditions, ils ne pondent pas non plus dans des espaces fermés ou à l'intérieur des maisons. Il semble que le besoin de pondre doive devenir très intense avant qu'ils se décident à pondre dans les verres. Ce besoin peut provenir de facteurs physiologiques (moustiques privés de toute occasion de pondre) ou de facteurs pathologiques (moustiques secoués jusqu'à ce qu'ils soient presque morts). On peut très facilement et très rapidement isoler les moustiques en les extrayant des petites cages à l'aide du tuyau d'aspiration. Lorsqu'on emploie pour le transport les caissettes de Hambourg, et qu'on peut ainsi expédier les moustiques par la poste à un laboratoire permanent, on est rarement contraint à faire usage de la caisse de Barber.

Tout d'abord, chacun de nous a procédé pour son compte à l'identification des œufs, Martini utilisant le Zeiss A, oculaire 2 ou 3, et Zotta, généralement, un binoculaire. Très souvent, les flotteurs ont encore été examinés avec un oculaire Zeiss D, d'un grossissement plus fort. Les résultats ont été confrontés immédiatement. Des appréciations divergentes étaient très rares. Lorsque, pendant notre absence, M^lle^ Nicolau ou M^lle^ Jordan examinaient les œufs, un échantillon était enfermé dans de l'eau formolée sous une lamelle, au moyen d'un cercle de paraffine, et examiné par nous après notre retour. Tous les diagnostics étaient pratiquement concordants.

Le temps dont nous disposions ne nous a pas permis de pratiquer, sur les échantillons recueillis, la mensuration des ailes et la détermination de l'index maxillaire. Dans l'état actuel de ces questions, de telles investigations, très intéressantes par elles-mêmes, ne présentent pas un intérêt pratique *immédiat*. De même, nous nous sommes bornés, lors de l'examen des œufs, à noter les cas dans lesquels les dimensions des flotteurs ou la forme de l'œuf différaient sensiblement du type normal des diverses races. Nous n'avons pas procédé au dénombrement des côtes des flotteurs; nous nous rendons cependant compte que ces constatations présenteraient un intérêt considérable pour la détermination ultérieure des causes de la diversité extraordinaire des œufs d'anophèles, même de ceux de la même variété.

Nous n'avons eu que rarement l'occasion de faire des préparations du sang sur papier-filtre, en vue d'une réaction de précipitation ultérieure. On écrasait, en ce cas, un ou plusieurs moustiques sur une feuille de papier-filtre, en laissant un espace suffisant pour que les diverses préparations pussent être découpées facilement. Les gouttes n'étaient distribuées que sur une moitié de la feuille, de sorte que l'autre moitié pouvait être repliée pour les protéger. Les gouttes étaient séchées à l'air aussi bien que possible et conservées. L'examen sérologique n'a été effectué que vers la fin de l'automne par le docteur Weyer; ce dernier a recherché, à l'aide de sérums de l'Office d'Hygiène du Reich, si les échantillons contenaient du sang humain ou du sang de chiens, de porcs, de ruminants (bœufs) et de chevaux, et, à l'aide de sérum sec de Milan, s'ils renfermaient du sang de mouton.

Faute de temps, nous avons non seulement renoncé aux examens micro-climatologiques, mais encore à l'analyse de l'eau. L'eau a été appréciée d'après sa saveur, compte tenu du sol environnant. Lorsqu'il se produisait un précipité blanc, ce dernier a été examiné avec la langue. Avant tout, nous avons observé la végétation sur les rives. Celle-ci révélait sur une grande étendue une certaine salinité de l'eau. C'est ainsi que, près de Ciofliceni (département d'Ilfov), nous avons trouvé des *Salicornia,* ainsi que des *Spergularia marginata* et des *Sueda maritima.* Les *Salicornia* formaient des gazons compacts dans la région de Naipu (gouvernement de Vlasca). En outre, nous en avons rencontré dans les zones des anciennes dunes du Grind, dans le delta, à divers endroits, par exemple aux environs de Sfistofca. Près de Podul Iloaei, des *Statice* révélaient une certaine salinité d'un grand marécage. Aux environs de Hodora, nous avons trouvé des couches blanchâtres, d'une saveur saline, qui recouvraient le sol.

IV. — *LES CARACTÉRISTIQUES DES ŒUFS DES DIVERSES RACES*

Il semble inutile de parler ici de la différenciation des races d'*Anophèles maculipennis* (ou des sous-espèces) à l'aide des pontes (voir, à ce sujet, Missiroli, Hackett et Martini).

Il y a lieu de présenter quelques observations. En ce qui concerne le dessin, nous avons remarqué qu'il n'était pas rare que les bandes transversales noires, chez l'*A. m. maculipennis,* présen-

tassent des entailles sous forme de languettes plus claires, ou qu'elles fussent même transformées en une série transversale de taches foncées par des lignes plus claires. En examinant ces œufs, on est toujours frappé des dimensions et de la hauteur des *columellæ* de l'*exochorion*. Les bandes transversales noires paraissent beaucoup plus étroites, comme si le cercle des *columellæ* était effacé. Chez les *messeæ*, ces contrastes sont loin d'être aussi nets.

Chez cette dernière variété, il n'est pas rare que les bandes transversales soient irrégulières et qu'elles ne soient pas orientées exactement dans un sens transversal. Ici aussi, on remarque parfois que les bandes sont coupées et revêtent la forme de taches distribuées d'une façon assez irrégulière. Lorsqu'on examine de tels œufs, on constate quelquefois qu'en réalité on ne peut plus parler du tout de bandes transversales et qu'un petit nombre seulement des œufs d'une ponte montre nettement cette caractéristique principale de la sous-espèce *messeæ*. Néanmoins, la différence de constitution entre ces œufs et les œufs des *atroparvus* est très visible lorsqu'on a l'occasion de comparer ces deux sortes. Il est vrai que la nuance fondamentale des œufs n'est pas nécessairement différente. On observe parfois, quoique rarement, une nuance très légèrement brunâtre même chez les *messeæ*; sa netteté varie très considérablement chez les *atroparvus*.

Chez la variété *atroparvus*, le dessin se compose par contre de taches cunéiformes disposées obliquement et dont la large base est située vers l'extérieur, alors que des pointes en dégradé sont dirigées vers l'intérieur. Ces taches cunéiformes obliques peuvent, en Allemagne notamment, se transformer en un dessin où la teinte sombre domine. Une ponte tachetée de *messeæ*, où les bandes ne subsistent plus que sur un côté des œufs ou que sur quelques œufs, accuse un ensemble de taches qu'on voudrait ramener à un type fondamental ayant plutôt l'aspect d'un échiquier. S'il se produit, chez la variété *atroparvus*, une forte extension de la teinte foncée, il se forme également des bandes, mais qui, toujours, semblent avoir nettement tendance à être orientées obliquement, alors que, chez les *A. messeæ*, elles sont transversales.

La forme générale des œufs ne permet que de tirer de rares déductions. A côté d'œufs minces, nous avons également trouvé, chez la variété *atroparvus*, la variété *messeæ* et la variété type des œufs très larges. Chez la variété *atroparvus*, les œufs larges

et clairs produisent facilement l'impression de *labranchiæ*, notamment lorsque les flotteurs sont petits. Au début, nous avons classé toute une série d'œufs comme des *labranchiæ*, non cependant sans quelque hésitation. Mais lorsque nous les avons comparés avec des pontes caractéristiques de moustiques d'Ardea, nous avons dû constater que nos *labranchiæ* ne pouvaient guère être classés dans cette catégorie. Dans la même ponte, il n'est pas rare de trouver des œufs chez lesquels la proportion entre la longueur et la largeur diffère d'une manière frappante, notamment lorsqu'un certain nombre ont la même largeur que la plupart des œufs, mais sont sensiblement plus courts.

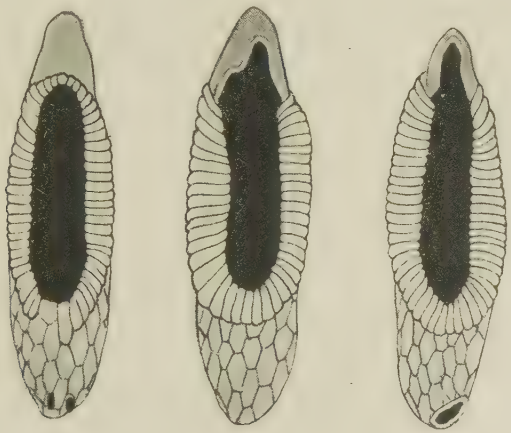


Fig. 2.

Nous n'avons guère observé la caractéristique à laquelle on attache, depuis un certain temps, une importance primordiale, à savoir la striation transversale des espaces intercostaux des flotteurs chez les *labranchiæ*. Nous n'avons pour ainsi dire jamais rencontré, réunies, *toutes* les caractéristiques des *A. labranchiæ* : absence de bandes transversales; par contre, taches cunéiformes plus ou moins faibles; prédominance de la teinte grise; œufs larges; flotteurs courts, peu saillants; striation des espaces intercostaux. Par contre, la *plupart* de ces caractéristiques ont été observées fréquemment sur les œufs de la variété *atroparvus*.

En examinant des œufs de *labranchiæ*, d'Ardea, nous avons été frappés de la teinte grise uniforme et des stries prononcées des flotteurs très petits. Ces stries présentaient tout un autre

caractère que chez la variété *atroparvus*. Chez cette dernière, elles se composent essentiellement de petits plis transversaux entre les côtes, qui ne peuvent produire une sorte de réseau qu'occasionnellement, lorsque, sur des flotteurs très fortement striés, ces plis se divisent et se rejoignent les uns les autres. Chez la variété *messeæ*, on trouve le plus souvent un réseau, avec des points intermédiaires; lorsqu'il présente un aspect caractéristique, on ne peut guère parler d'une prédominance des stries transversales. Par contre, les flotteurs faiblement striés présentent parfois un aspect qui se rapproche de l'aspect extrême de la variété *atroparvus*. Occasionnellement, on trouve même des flotteurs presque clairs. Chez la variété type, on remarque des conditions à peu près analogues à celles qu'on observe chez les *messeæ*. Les œufs d'Ardea présentaient également des stries très rapprochées, formées de plis et de points, mais les stries en longueur (parallèles aux côtes) semblaient prédominer, exactement comme sur les œufs d'*elutus* pourvus de flotteurs.

Pour ce qui est de la longueur et de la hauteur des flotteurs, les différences sont très considérables chez toutes les races. S'il est vrai que les *messeæ* et les *maculipennis* ont le plus souvent de grands flotteurs et ne présentent jamais de flotteurs aussi minuscules que ceux des *atroparvus*, on observe cependant des *atroparvus* dont les flotteurs sont relativement longs et atteignent à peu près la longueur moyenne de ceux des *messeæ*. De même, il existe des œufs de *messeæ* et — fait plus frappant encore — des œufs de la variété type dont l'index des flotteurs peut être aussi petit ou même plus petit que celui qui est caractéristique de la variété *atroparvus* (« Mode »).

La figure 2 montre des œufs absolument anormaux. Ces derniers proviennent d'Obilesti (gouvernement d'Ilfov) et ont été trouvés le 20 août. Je croyais tout d'abord avoir découvert une variété d'œufs toute nouvelle, mais le moustique correspondant était incontestablement un *maculipennis* et les différences très notables entre les œufs ne permettaient pas de douter qu'il s'agissait d'œufs normaux. Chez quelques-uns de ces œufs, le flotteur droit et le flotteur gauche étaient réunis; chez d'autres, ils étaient encore séparés. De même, les points noirs aux extrémités où l'exochorion de la partie inférieure, rejeté sur la partie supérieure, est ajouré, présentaient un aspect absolument différent d'un œuf à l'autre. A première vue, ces œufs me rappelaient les œufs du *pseudopictus*; mais, en les examinant de plus près, j'ai relevé des différences très sensibles. Rien ne permet d'expli-

quer cette anomalie. Une deuxième ponte présentant les mêmes anomalies nous a été envoyée de la région de Gurbănesti. La différence n'était pas aussi nette que chez les œufs de la première ponte. Une troisième ponte, qui ressemblait dans l'ensemble à la première, provenait du delta du Danube et se composait d'œufs de Sfistofca recueillis le 4 septembre.

Des œufs noirs n'ont pas été rares. Le plus souvent, il est vrai, quelques-uns au moins des œufs de telles pontes avaient coulé. Dans d'autres régions, quelques œufs isolés, seulement, étaient noirs. Dans ces cas, il était naturellement facile de déterminer la nature de la ponte d'après les autres œufs de teinte normale. De toutes les pontes noires que nous avons rencontrées, nous avons fait sécher quelques œufs soit sur le porte-objets, soit sur du papier-filtre. La couleur noire disparaissait alors et l'œuf prenait sa teinte normale. Souvent la transformation est très subite et il est très intéressant de l'observer au microscope. L'air pénètre subitement dans les flotteurs. Ceux-ci deviennent blancs et, presque simultanément, en l'espace de quelques secondes, la couleur noire disparaît, à un ou plusieurs endroits, et la teinte normale apparaît sous forme de taches qui s'élargissent rapidement. Il est également possible de donner, par séchage, la teinte normale à des œufs qui avaient coulé; ces œufs, comme on le sait, ont toujours un aspect noir. Par cette méthode, nous avons pu déterminer la race à laquelle appartenaient les œufs noirs de toutes les pontes flottantes et de la grande majorité des pontes coulées. Très souvent, cependant, des œufs qui ne sont pas encore mûrs se contractent considérablement pendant le séchage, de sorte qu'il peut devenir impossible de déterminer leur nature.

Le plus souvent, nous avons trouvé que ces pontes appartenaient à la variété *messeæ* ; toutefois, même des œufs noirs nous ont parfois donné des *atroparvus* et même, dans un cas, des *maculipennis typicus*. Nous n'avons jamais trouvé, en Roumanie, de vrais œufs noirs auxquels il n'ait pas été possible de donner l'aspect normal par le séchage.

Chez certains œufs de *messeæ*, nous avons parfois observé que les flotteurs étaient presque absolument clairs. Nous n'avons pas examiné le dessin des flotteurs de toutes les pontes, mais le nombre des œufs examinés à cet égard a été si élevé que nous pouvons affirmer que les œufs des *messeæ* ayant des flotteurs presque clairs constituent nettement des exceptions.

V. — *RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE*

Nous donnons ci-après les indications sur chacune de nos captures groupées selon des considérations géographiques et topographiques; ces captures ne sont donc pas énumérées exactement dans l'ordre dans lequel elles ont été effectuées.

1° Environs de Jassy (7 au 15 aout)

Pendant la période d'observation du 7 au 13 au matin, le temps était chaud et sec ; le 13 août, à midi, la chaleur atteignait environ 30 degrés à l'ombre. Ensuite, un orage violent, accompagné de grêle, a éclaté et a ramené la température à environ 16 degrés; les jours suivants, le temps est resté nettement frais.

La configuration de la région (fig. 1) est déterminée par la vallée du Pruth, orientée à peu près dans la direction nord-sud; de la vallée du Bahlui, qui rejoint la vallée du Pruth par l'ouest, et, enfin, par la vallée du Jijia, qui s'ouvre par le nord sur la vallée du Bahlui. La vallée du Pruth est très large ; le fleuve y forme de grands méandres et la vallée est remplie de marécages et de bras morts, et est exposée à de fortes inondations. La limite est de la vallée est formée par les pentes du haut plateau de Bessarabie, et la limite ouest, par les pentes des collines de la Moldavie. Le fond de la vallée du Pruth, dans la région de Jassy, se trouve à une altitude d'environ 34 mètres au-dessus du niveau de la mer, et Jassy, à l'ouverture de la vallée du Bahlui, est située à une distance de 15 kilomètres à peu près du Pruth. A cet endroit, le fond de la vallée se trouve à une altitude d'environ 37 mètres au-dessus du niveau de la mer. Toutefois, la ville s'étage jusqu'à une altitude de plus de 100 mètres sur les collines qui forment les rives du fleuve. Sur la rive droite du Pruth, ou à l'est de Jijia, est située, tout à fait au fond de la vallée, la localité de Prisacani, que nous avons visitée. Sur la rive droite du Jijia, immédiatement au nord de l'embouchure du Bahlui, se trouve la localité de Cristești, qui s'appuie aux contreforts que forment les hautes terres, à l'endroit où la vallée du Bahlui rejoint celle du Pruth. En effet, à cet endroit, le Jijia est, sur un long parcours, parallèle au Pruth et coule, dans la même vallée, vers le sud-est. Les pentes sont très faibles, de sorte qu'il se forme précisément, près de Cristești, de vastes marécages à l'intérieur

desquels se trouve un lac d'une certaine étendue. A une dizaine de kilomètres au sud-est, dans la partie droite de la vallée du Pruth (Pruth et Jijia), on rencontre la localité d'Ossoi, que nous avons également visitée, et environ 9 kilomètres plus loin, en aval, se trouve la localité de Costuleni; l'une et l'autre localité s'étagent légèrement sur les flancs de la vallée. Le terrain entre le Jijia et le Pruth est, en grande partie, exposé aux inondations des eaux de ces deux fleuves et il est entrecoupé de marécages et de bras morts. Au sud de Jassy et de la vallée du Bahlui, se trouve une charmante région vallonnée qui, aux environs de *Poeni,* s'élève jusqu'à une altitude de plus de 300 mètres au-dessus du niveau de la mer.

Du côté de la vallée du Bahlui, à une altitude plus faible, qui n'est cependant pas inférieure à 100 mètres, on rencontre la localité de *Socola,* avec son grand asile d'aliénés et la station de malariathérapie. A la même altitude approximativement que Socola, et non loin du confluent du Bahlui et du Jijia, la localité de *Tomesti* s'appuie au flanc des collines, à une altitude variant entre 50 et 150 mètres environ. A 22 kilomètres à peu près à l'ouest de Jassy, dans la vallée du Bahlui, est située la petite ville de Podul-Iloaiei, où nous avons procédé, le 16 août, à la capture de moustiques. A une trentaine de kilomètres (à vol d'oiseau) en amont, sur les rives du Bahlui, on rencontre la localité d'Hodora, dont certaines parties sont situées à une altitude de 50 à 100 mètres au-dessus du niveau de la mer, alors que d'autres sont beaucoup plus élevées. Pour la région au sud-est de Jassy, on a créé trois centres d'hygiène rurale, dirigés par l'Institut d'Hygiène de Jassy. Le premier est situé à Tomesti, le second à Prisacani et le troisième, dont relèvent la plupart des villages élevés, à Poeni.

Il n'y a pas lieu d'étudier, dans le présent rapport, les tâches particulières de ces stations et leur méthode de travail, ni les recherches remarquables sur diverses méthodes de traitement médicamenteux du paludisme dont on fait l'essai dans ces stations.

Le tableau suivant donne les résultats de nos captures :

Région de Jassy

Localité	Date	*Maculip.*	*Messeæ*	*Atrop.* + *Labr.*
Cristești.				
Etable	10-8	1	18	1
Maison de pêcheur	10-8		19	
Chaumière vide	10-8		13	

Localité	Date	*Maculip.*	*Messeæ*	*Atrop.* + *Labr.*
Prisacani.				
Etable	11-8	1	36	1
Maisons	11-8	1	16	
Costuleni.				
Etable	11-8	3	13	
Maisons situées plus près de la montagne	11-8	5	8	
Ossoi.				
Maison du haut	9-8	4	8	
Etable du haut	9-8	6	15	
Etable du bas	9-8	4	14	
Maison du bas	9-8	1	8	
Tomești.				
Etable	9-8	5	18	
Maison	9-8	2	14	
Poeni.				
Etable	15-8	27	3	
Maison	15-8	1	1	
Socola Sendrea.				
Etable	7-8	30		
Hôpital :				
étable	7-8	27		
pavillons	7-8	11	1	1 ?
Manisali.				
Porcherie	8-8	15		
Manisali.				
Chambre à coucher	8-8	2	1	?
Podul Iloaei	14-8	23	1	13
Automne				3
Hodora.				
Maisons situées sur la hauteur	14-8	3		
Etable située sur la hauteur.	14-8	15	1	6
Etable dans la plaine	14-8	22		5
Vallée inférieure du Pruth (gouvernement de Cuvurlui)				
Oancea.				
Etable	7-9	1	46	
Maisons	7-9	1	42	
Vladești.				
Etable	7-9	3	44	
Maisons	7-9		36	
Frumușița	7-9	3	34	4
Tuluceesti.				
Etable	7-9		46	1

Il ressort de ce tableau que la vallée du Pruth renferme une faune anophélienne où domine nettement la variété *messeæ*. Poeni, localité la plus élevée, possède presque exclusivement des *maculipennis*, et Socola, qui est également sur la hauteur et assez éloignée du Pruth, possède aussi une faune presque exclusive-

ment composée de *maculipennis*. A Tomesti, par suite de la proximité du Pruth, le nombre des *messeæ* est beaucoup plus élevé. A Ossoi, les captures effectuées près du bas de la colline donnaient encore plus de *maculipennis* que celles faites dans les villages de Cristești et de Prisacani, qui se trouvent tout à fait dans le fond de la vallée.

De même, à Costuleni, les captures effectuées au bas des collines accusent un pourcentage de *maculipennis* plus élevé que celles qui ont été faites dans une étable située plus bas, dans la vallée du Pruth. Comme on l'a déjà signalé, la faune des localités situées tout à fait dans la vallée du Pruth, Cristești et Prisacani, est presque exclusivement composée de *messeæ*.

Mais, alors, d'où viennent les *atroparvus* isolés qui ont été capturés dans les fonds de la région du Pruth ou près de Socola ? Il ressort de nos tableaux que l'*atroparvus* se rencontre fréquemment à Podul-Iloaei aussi bien que dans le voisinage de Hodora. Ainsi, un habitat d'*atroparvus* paraît nettement se présenter dans la région du Bahlui; des insectes isolés peuvent être entraînés en aval soit par le courant de la rivière, soit par les déplacements d'air lorsque le vent du nord-ouest souffle violemment, et s'introduire ainsi dans les régions voisines.

D'après ce que nous avons pu constater, dans ces régions, les conditions sont sensiblement les mêmes en ce qui concerne le mode de logement du bétail; néanmoins, la richesse du cheptel semblerait être quelque peu différente d'un village à l'autre.

Par contre, les conditions hydrographiques méritent de retenir notre attention. Près de Socola, on trouve, dans le fond de la vallée, un ancien marais envahi par les roseaux qui empêchent presque complètement le soleil de parvenir à la surface des eaux. Ce marais est traversé par un petit torrent. Il devait constituer autrefois le gîte à larves principal de la localité. Cette année seulement, un nouvel étang s'est formé un peu plus sur la hauteur. La station anti-paludéenne a élevé un barrage dans un petit ruisseau et créé ainsi un bassin d'eau ensoleillé dont la partie inférieure est utilisée pour la baignade par les jeunes gens du village, tandis que sa partie supérieure, dont la surface est abondamment couverte d'algues et d'herbes, abrite de grandes quantités d'anophèles. On peut y trouver des œufs d'anophèles en grande quantité; l'énorme majorité de ces anophèles appartiennent à la race rayée *(maculipennis)*, mais on y rencontre cependant, quoique isolés, des œufs d'*atroparvus*. Il existe également, dans le voisinage de Poeni, des endroits marécageux et

couverts de roseaux, analogues à ceux de Socola. La situation hydrographique de Tomești n'a pas été examinée d'une façon détaillée.

En ce qui concerne les localités de Cristești, d'Ossoi, de Prisacani et de Costuleni, les principaux gîtes à larves sont certainement les bras morts et les marécages du Pruth. La photographie du docteur Alexa donne une image des fonds de la vallée du Pruth (fig. 3). Le lac de Vladnic est un marécage couvert d'énormes touffes de roseaux séparées par des échappées et des groupes de roseaux plus clairsemés. Des courants rapides alternent avec des étendues d'eau presque stagnante. On trouve, éparpillées sur

Fig. 3.

de grands espaces, de grandes étendues de duvet d'algues alternant avec des flocons d'algues plus petits et adhérant encore à la tige. C'est là un milieu favorable pour les larves d'anophèles. Mais, même dans les roseaux baignés par un faible courant, on peut sans difficulté recueillir une quantité de larves. Les constructions situées au bord du lac paraissent extraordinairement riches en anophèles, par comparaison avec les autres localités situées au bord du Pruth et, bien plus encore, avec celles qui sont plus éloignées du cours d'eau.

Cristești doit souffrir terriblement des moustiques. Cependant, notre intention d'étudier, dans la soirée même, ces moustiques, n'a pu se réaliser, à cause d'un sérieux orage qui a fait baisser la température d'envrion 14°.

Si nous avons été amenés à rechercher des anophèles près de Podul-Iloaiei, c'est que nous y avons aperçu une grande étendue de prairie humide, caractérisée par la fréquente présence de *statice*. On pouvait donc supposer l'existence, en ce lieu, d'une faune des régions salines, et notre supposition a été confirmée par le fait que nous avons capturé, dans cet endroit, le nombre relativement le plus élevé d'échantillons de la variété *atroparvus*. En montant vers Hodora, nous avons rencontré sur le sol, à diverses reprises, des efflorescences blanches qui avaient un goût salé. Les sols salins étaient donc fréquents dans cette région, et l'on peut peut-être rapprocher de cette constatation le nombre élevé d'*atroparvus* qui a été enregistré près de Hodora. D'une façon générale, Hodora n'avait pas beaucoup de moustiques.

Ainsi, la diffusion des espèces d'anophèles dans les régions examinées correspond aux suppositions que l'on pouvait faire en partant de la corrélation oro-hydrographique constatée en Allemagne pour ces espèces: l'*A. m. maculipennis* sur les hauteurs, l'*A. messeæ* dans le fond de la vallée, l'*A. atroparvus*, dense seulement lorsque l'on rencontre des eaux salées.

Dans la région inférieure du Pruth, on constate, comme dans la région supérieure, que la faune anophélienne est presque exclusivement composée de *messeæ*. L'*A. atroparvus* ne se trouve que rarement et à l'état sporadique; l'*A. m. maculipennis* recule nettement comme à Cristești et à Prisacani, localités dont l'anophélisme est certainement conditionné, dans une très large mesure, par le grand nombre d'anophèles engendrés par les marécages du Pruth et les bras morts. Les limites de la zone d'inondation du Pruth sont nettement moins élevées dans le voisinage des lieux que nous avons examinés, soit Oancea, Vladesti, Frumușița et Tulucești (gouvernement de Covurlui, voir p. 33), que dans la région de Jassy. Il est vrai que nous nous trouvions là bien au sud de la faille où vient aboutir la zone méridionale d'affaissement de Moldavie; par conséquent, la partie septentrionale possède seule un plateau fortement accidenté, tandis qu'une plaine peu accidentée, entamée uniquement par les vallées fluviales, s'est formée vers le sud. Plus encore qu'en amont, la pente étant très faible, les formations marécageuses prédominent; ces formations viennent pour ainsi dire finir au sud, vers la vallée du Danube, par l'imposant lac Brateș, dans le voisinage de Tulucești. Ce serait sortir du cadre du présent travail que de relever les intéressants détails de la structure du terrain et des essais d'amélioration et d'assainissement qui ont été tentés dans cette région.

2° Gouvernements de Vlasca et d'Ilfov

1. Le département de Vlasca est situé à l'ouest de Bucarest, dans la partie centrale de la plaine de Valachie (fig. 4). Il forme une large plaine dépourvue de collines appréciables. Les nombreuses vallées qui le traversent, notamment dans sa partie septentrionale, sont orientées vers le sud ou le sud-est, et doivent leur origine à des érosions de la période quaternaire. Ce département a une superficie de 3835 kilomètres carrés, et une population de 270.325 habitants.

La culture prédominante est celle des céréales. Le département de Vlasca est célèbre pour ses récoltes de froment, de maïs, etc. Dans la zone d'inondation, on trouve de grandes pêcheries le long du Danube. Tandis que la rive droite du fleuve, du côté bulgare, est en général plus élevée, le terrain est tout à fait bas du côté de la Roumanie; aussi, la zone d'inondation y est-elle très large. C'est là une caractéristique de toute la partie méridionale du département, comme d'ailleurs de la partie méridionale des départements voisins.

Dans le gouvernement de Vlasca, la zone d'inondation du Danube s'étend donc sur une longueur d'environ 70 kilomètres et sur une largeur variable de 4 à 16 et 17 kilomètres. Cette zone représente en réalité l'ancienne vallée du Danube et elle est limitée au nord par une pente vraiment abrupte qui atteint souvent, notamment vers l'est, une hauteur de 75 à 80 mètres. Toute cette région est fortement irriguée, tant par des eaux souterraines provenant du Danube que par les nombreuses sources qui descendent du bord supérieur de cette région.

La zone d'inondation du Danube, « Lunca Dunării », est remplie d'étangs et de lacs permanents, ainsi que d'étangs semi-permanents qui se remplissent à la période des grandes crues (avril-juin et juillet). La majeure partie des lacs et étangs permanents sont reliés entre eux par des canaux dont le cours est extrêmement lent; ils sont également reliés avec le Danube. Il existe, la plupart du temps, un canal d'amenée et un canal d'évacuation. Le courant très lent de ces canaux et le processus de sédimentation que l'on y constate comblent la plupart des canaux à proximité de leur débouché; il s'ensuit que l'ensemble de ces étendues d'eau est transformé en un système d'eaux dormantes et rapprochées. Ce n'est que dans le cas des grandes étendues d'eau que les hommes ont maintenu libre le cours des

canaux les reliant au Danube, à cause de la pêche très rémunératrice.

Aux basses eaux, la zone d'inondation du Danube se compose d'étendues d'eaux permanentes et presque stagnantes, ainsi que de grandes étendues de terres qui ne sont pas inondées, mais qui ne sont cultivées qu'en très faible partie (la récolte y est très abondante). La majeure partie de ces terres sert de pâturage à un bétail très nombreux.

A l'époque de la crue de printemps, les eaux du Danube

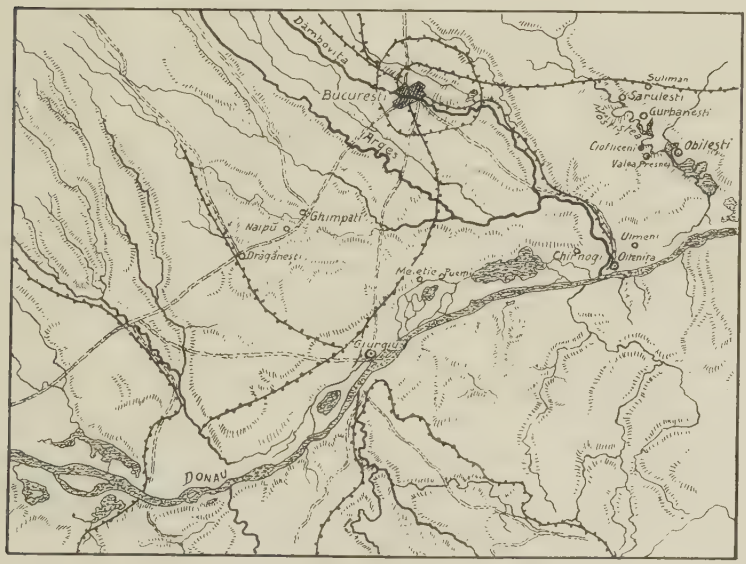


Fig. 4.

s'élèvent jusqu'au pied des collines situées sur la rive gauche et recouvrent les lacs permanents, ainsi que le reste de la zone. Toute la région se transforme donc en une nappe d'eau presque ininterrompue, d'où émerge seul le sommet des saules.

Lorsque les eaux commencent à se retirer, les terres apparaissent peu à peu et sont immédiatement couvertes d'une végétation d'autant plus vigoureuse que le limon très riche que le fleuve a charrié lui sert d'engrais. Toutefois, d'innombrables étendues d'eau d'une superficie extrêmement variable subsistent encore longtemps dans la région et constituent toutes des gîtes à larves pour les moustiques. Aussi trouve-t-on un nombre souvent élevé

de ces insectes dans toute la zone d'inondation du Danube. De grandes masses de roseaux couvrent partiellement les eaux peu profondes, ainsi que les rives des lacs permanents.

Le reste du département est traversé par une quantité de rivières dont la plus importante est l'Argeșul. Ce cours d'eau suit, sur une certaine distance, la limite orientale du département et son lit se dirige généralement du nord-ouest au sud-est. A cette altitude, il a déjà perdu le caractère de torrent qu'il possédait dans le nord, dans les collines sub-carpathiques. Son cours est très lent et sinueux. L'Argeșul recueille presque toutes les eaux des rivières qui pénètrent dans le département, notamment le Neajlow et son affluent le Dunbovnic, et le Glavaciocu avec la Cîlnișlea. Les autres cours d'eau, d'une moindre importance, se jettent dans les rivières précitées. Ce groupe représente presque la totalité des cours d'eau du département. Il n'y a plus qu'une rivière d'une certaine importance à l'ouest, le Clănitsa, qui se dirige vers le sud-ouest et un petit cours d'eau d'une infime importance, la Finca, qui se dirige vers les lacs de la zone d'inondation. Cette rivière se jette dans le « balta Mahîru ». Parmi tous ces cours d'eau, le Glavaciocu et surtout son affluent la Cîlnișlea, et les cours d'eau qui s'y jettent, jouent un rôle particulièrement important, au moins dans l'état actuel de nos connaissances sur le paludisme dans le département de Vlasca. La vallée de la Cîlnișlea traverse cette région sur une distance d'environ 35 kilomètres à vol d'oiseau (plus de 50 kilomètres si l'on tient compte de tous les méandres); avec tous ses affluents, cette rivière arrose une superficie d'environ 38.000 à 40.000 hectares. Son cours est très sinueux et le courant en est très faible. De place en place, les habitants ont construit des digues qui maintiennent les eaux et amènent la formation d'étangs.

D'autre part, l'ensablement naturel de la rivière l'oblige souvent à changer de lit, ce qui donne naissance à d'assez nombreux bras isolés et souvent dormants. Une riche végétation de roseaux foisonne dans toute la vallée et recouvre parfois complètement la surface des eaux. Ce n'est que lors des grandes pluies de printemps que l'eau commence à s'écouler plus vite; pendant la plus grande partie de l'année, le climat continental condamne la vallée à une sécheresse presque totale.

On rencontre fréquemment, à divers endroits de la vallée, surtout pendant la période sèche, des emplacements de grandeurs diverses où le sol paraît nettement salin. La végétation, rencontrée dans la vallée du ruisseau, fournit la même indication, étant

donné la prédominance de *salicornes*. La partie de la vallée avoisinant Asanaga nous en donne un bon exemple; en effet, une certaine quantité de ces emplacements nous avait fait penser que l'on y trouverait des gîtes à larves d'*atroparvus*, et cette hypothèse avait été confirmée par les moustiques capturés.

Vingt villages comptant une population de 35.000 habitants rentrent dans la région de la vallée de la Cîlnișlea, qui représente pour eux l'unique source d'anophélisme. L'anophélisme y paraît assez modéré, surtout si on le compare avec celui de la zone d'inondation du Danube, tel que nous l'avons constaté dans les villages situés à la limite nord de cette zone.

La vallée de la Mostiștea (planche II) est située dans la partie orientale du département d'Ilfov, presque à la limite du « Baragan », grande steppe au climat sec qui occupe l'angle sud-est du pays et qui est limitée par le Danube au sud et à l'est.

2. La Mostiștea s'est frayé un passage dans de riches terrains quaternaires (loess); avec ses nombreux méandres, elle atteint une longueur d'environ 95 kilomètres. La vallée commence au nord-est de Bucarest et s'oriente généralement vers le sud-est. Le courant y est extrêmement faible et le cours d'eau est même complètement interrompu à certains moments. Les habitants ont également construit des digues à divers endroits pour conserver des lacs permanents. Aussi, la vallée est-elle plutôt une chaîne d'étangs et de marécages qui occupent l'ancien lit d'un fleuve antérieur et qui ne sont reliés entre eux que pendant la saison des pluies, au printemps. Ils sont peu profonds et riches en végétation d'eau douce. Les eaux de la Mostiștea sont recueillies par le lac de Monastirea qui se trouve déjà dans la zone d'inondation du Danube et qui est relié à ce fleuve.

Les affluents de la Mostiștea, surtout la Milotina et la Vânăta qui arrosent le village de Suliman, constituent d'autres vallées du même type hydrographique. Toute cette région est habitée par une population agricole très dense qui vit dans de nombreux villages. Un certain nombre de ces villages sont placés sous la surveillance de la station de Gurbănesti; ce sont les villages de Pîrlita, de Sărulesti, Preazna, Gurbănesti, Cotofeanca, Obilesti, J. C. Bratianu, Vlădiceasca, Suliman, etc.

D'une façon générale, la vallée est très large. Sur les deux rives, on rencontre des pentes douces qui se prolongent jusqu'à la plaine de Valachie. Les villages sont construits sur ces pentes; la majeure partie du village est sur la hauteur, tandis que des groupes de maisons descendent jusqu'au bord de la rivière.

Les parties élevées des villages sont toujours balayées par des vents parfois violents qui, partant du nord et du nord-est, soufflent de la steppe Baragan sans rencontrer d'obstacle, vu que les « petits bois » maigres et clairsemés qui sont éparpillés dans le pays n'offrent pour ainsi dire aucune résistance aux vents.

Pendant l'été où règne la plupart du temps la sécheresse et de forts vents, tout le réseau de marécages subit une réduction très notable. L'eau se retire de grandes étendues. C'est à ce moment qu'apparaissent les endroits salins comme, par exemple, dans le voisinage de Sărulesti, Cotofeanca, de Suliman, etc., etc.

Races d'anophèles rencontrées dans les gouvernements d'Ilfov et de Vlasca

Localité	Date	*Maculip.*	*Messeæ*	*Atrop.* — *Labr.*
Suliman	19-8		12	10
Preazna	21-8		9	3
Obilești.				
Ecurie sans chevaux	18-8		18	3
Magasin à maïs	18-8		26	0
Maison avec étable	18-8		19	1
Ciofliceni.				
Etable	25-8		30	0
Sărulesti.				
Ecurie sans chevaux	19-8		24	1
Brâncoveni.				
Etable, volailles et veau	19-8		17	0
Gurbănești				
Branești				
Ghimpati				
Naipu.				
Etable, bêtes à cornes et porcs	10-9		17	8
Maisons habitées	10-9		1	
Asanaga.				
Etable ouverte	10-9	2	16	9
Maisons habitées	10-9		21	3
Drăgănești.				
Ecurie avec un cheval devant l'écurie	10-9	1	7	19
Maison habitée	10-9		1	6
Meletie.				
Etable	10-9	2	42	
Maison habitée	10-9		25	
Pucni.				
Ecurie	10-9		45	
Chirnogi.				
Maison	23-8		5	
Dépôt de glace	23-8		12	
Ulmeni	23-8	1	10	

On constate dans toute la région la prédominance de *messeæ*. Le *maculipennis* se rencontre à l'état sporadique. Nous devons également admettre à peu près partout la présence d'*atroparvus*. Les divers fleuves de la steppe possèdent apparemment un nombre d'*atroparvus* très divers. La Valea Vânăta a beaucoup d'*atroparvus* près de Suliman; il est possible que les *atroparvus* de Preazna, où nous avons capturé des moustiques dans un petit bois situé entre les vallées, proviennent également de la vallée de la Vânăta. La vallée de la Mostistea a relativement peu d'*atroparvus* qui ne semblent notamment pas être nombreux sur le grand lac d'Obilești. A Ciofliceni, il ne s'en est pas non plus trouvé beaucoup sur notre route, malgré la présence de salicornes près de l'étang. L'*atroparvus* se trouve en assez grand nombre dans la vallée de la Cîlnistea, près de Ghimpati, aussi bien qu'à Naipu. La proportion de cette race s'élève à 12 sur 51 à Asanaga, dans la petite vallée qui débouche à cet endroit dans la vallée de la Cîlnistea ; près de Drăgănești, la proportion atteint même 24 sur 33. En fait, nous avons vu, à proximité de cette localité, un emplacement tout rouge de salicornes. L'influence du fond de la vallée se fait nettement sentir, lorsque l'on compare ces résultats avec les captures opérées dans les localités situées sur la rive du haut Danube. L'*atroparvus* fait complètement défaut et, abstraction faite d'un faible pourcentage de *maculipennis* (3 pontes), toutes les pontes sont imputables aux *messeæ* (137) (Meletie, Pueni, Chirnogi, Ulmeni).

3° Le bas-Danube et le delta

En réalité, nous avions déjà pénétré dans la région du bas-Danube (fig. 5), lorsque nous avions visité les villages qui viennent d'être cités, du 27 août au 5 septembre. C'est dans une position identique à celle de ces villages que l'on trouve, sur la rive haute du Danube, en se dirigeant vers l'embouchure, et en aval de Braïla, les localités de Macin, Jijila, Garvăn, Văcăreni, Luncavita, Rachel, pr. Nicolae, Isaccea, Parcheș, Somova, Câșla et Tulcea. Nous avons opéré des captures dans les villages suivants que nous indiquons dans l'ordre d'amont en aval : Jijila, Văcăreni, Luncaviţa, Isaccea et Somova. Ici, le Danube n'a qu'un seul bras; toutefois, la zone d'inondation est également large et riche en marécages et en bras morts. Ou bien les localités sont situées tout au sommet de la rive élevée du Danube, ou bien elles

s'étagent sur la pente jusqu'à la zone d'inondation de ce fleuve. Dans ce dernier cas, on trouve des anophèles même dans la partie supérieure des villages.

Le secteur inférieur de la vallée du Pruth avoisinant Galatz (gouvernement de Covurlui), qui a été déjà examiné page 27, est adjacent à la région du Danube que nous étudions maintenant.

Dans les environs de Tulcea, le Danube se partage en trois

Fig. 5.

bras principaux : Chilia, Sulina et Saint-Georges, qui forment le delta. Les localités que nous avons examinées dans cette région se trouvent dans le delta lui-même, c'est-à-dire entre les bras du Danube à une très basse altitude. Des échantillons ont été prélevés dans la partie supérieure du delta, soit dans les localités de Ciatalchioi, Lascar-Catargiu et Pătlăgeanca ; au milieu du delta, à proximité du bras médian du Danube, près du Mille 23; enfin, dans le voisinage de la mer Noire : d'abord à Sulina, puis au nord de Sulina, dans les villages de Cardon, Sfistofca, Letea

et Rosetti; enfin, tout à fait au sud, sur le bras méridional du Danube, dans le village de Saint-Georges.

Pour comprendre le contraste qui existe entre la situation de Sulina et celle des autres localités, nous donnerons une description de la structure du delta du Danube, que nous tirons du travail du professeur Zotta.

Le delta proprement dit, y compris le système des lacs Razelm-Sinoe - Golovitza, constitue une cuvette dont le fond est à environ 2 mètres au-dessous du niveau de la mer Noire. Un mince cordon littoral le sépare de la mer sur une longueur d'environ 80 kilomètres. Du côté nord, cette cuvette est limitée par le bord du plateau bessarabien, très bas, tandis que, du côté sud, elle est limitée par les derniers contreforts du plateau de la Dobroudja, haute plateforme en grande partie triasico-crétacée et constituée par des terrains très durs.

Sur la surface immense et plate du delta, on aperçoit tantôt de longs canaux sinueux, tantôt des lacs de dimensions diverses, séparés par de très épaisses ceintures de roseaux. Des saules s'y trouvent en quantité innombrable, rarement isolés, le plus souvent disposés en longues files parallèles aux canaux ou en groupes denses constituant de petits bouquets. En deux points, il y a même deux forêts (Letea et Caraorman) de constitution très particulière.

Le bras Sulina partage le delta en deux îles, celle de Letea au nord, celle de Saint-Georges au sud. Une troisième île, le Dranov, est située au sud du bras Saint-Georges, entre ce dernier et le groupe de lacs.

Ce n'est que d'une manière toute apparente que les espaces ménagés entre les canaux ressemblent à des îles. En réalité, ce sont autant de lacs, ou mieux des compartiments de la cuvette du delta, qui sont recouverts en grande partie par des terres « flottantes » : les « *plaur* » ou « *plaw* ». Ces plateformes de « plaur » présentent des solutions de continuité de place en place et, dans ces brèches, l'eau réapparaît sous forme de lacs ou de marais, couverts de roseaux et de plantes de marécages. Les grandes étendues de « plaur » ressemblent à des surfaces de terre ferme et donnent l'impression d'îles.

Le « plaur » est constitué par un enchevêtrement inextricable de racines, surtout de *Phragmites*, de *Typha*, de *Scirpus* et de variétés de *Carex*. Il a une épaisseur de 80 à 90 centimètres. Le « plaur » se forme à partir de la terre ferme qui borde les compartiments de la grande cuvette du delta; il s'étend constamment

par des empiètements sur la surface des eaux et ne laisse subsister que des canaux, des lacs et des marécages. Le « plaur », terre flottante, est soulevé par les crues périodiques. Souvent, des fragments isolés s'en détachent, sont entraînés par le courant vers la mer et viennent ultérieurement s'échouer sur la côte. Les parties les plus solides du « plaur » sont fréquentées par des animaux sauvages et par les hommes; le bétail s'y rend et l'on peut même y construire des habitations humaines. C'est ainsi, par exemple, que les postes de pêche se trouvent en réalité sur le « plaur »; on a absolument l'impression de se trouver sur la terre ferme. Il suffit, toutefois, de percer le « plaur » en un endroit quelconque pour retrouver l'eau au-dessous. Il s'agit là des parties anciennes du « plaur » qui avoisinent la rive et qui se sont fortement consolidées. Par contre, d'autres formations importantes de « plaur » ont une constitution spongieuse; l'eau y suinte et il est impossible d'y passer même à pied. Ces formations spongieuses de « plaur » offrent des conditions excellentes pour les larves, alors que les roseaux constituent un abri tout indiqué pour les insectes adultes. Ces formations de « plaur » représentent de loin la plus grande partie de ce qui paraît être de la « terre » dans le delta. Les divers compartiments de la grande cuvette du delta sont séparés par des digues naturelles. Ces digues sont constituées tantôt par des anciens cordons littoraux à direction transversale, tantôt par les rives des anciens bras du Danube, dont la direction est surtout orientée parallèlement au grand axe du delta.

Les anciens cordons littoraux, dans la plupart des cas, étaient à l'origine des dunes qui sont aujourd'hui en partie fixées par la végétation, en partie mouvantes. Ces étendues de sable sont connues sous le nom de « grinduri »; elles abritent les agglomérations paysannes les plus importantes et laissent encore apparaître à certains endroits une végétation de terrains salins. Ainsi, en résumé, le delta du Danube est arrosé par les eaux douces de ce fleuve qui s'étendent immédiatement derrière la ligne côtière, le long des 80 kilomètres de l'étroit cordon littoral. En somme, la végétation ordinaire d'eau douce atteint la bande de terrain sablonneux qui sépare le delta de la mer. Lorsque les crues se font sentir dans le delta, les nombreux bras du Danube ouvrent des brèches dans cette bande de terrain sablonneux. Même lorsque le vent d'est fait déferler la mer contre la côte, ces bras se déversent avec un courant rapide et souvent violent, ce qui prouve abondamment que le niveau des

eaux est plus élevé derrière le cordon littoral que dans la mer. Il n'est pas étonnant, dans ces conditions, que cette étroite côte sablonneuse soit imbibée d'eau douce et que la seule plante côtière que l'on y rencontre soit le *Crambé*. Par temps sec, les bouches secondaires du Danube, dans tout le delta, se réduisent à un très petit nombre.

Cet étroit cordon littoral, disposé sur une grande longueur et dont Sulina occupe à peu près le milieu, est flanqué, au sud de la Chilia et au nord de Saint-Georges, par des terres de sable fixées, les « grinduri » de Letea et de Saint-Georges. En outre, un grand « grind » se rencontre au milieu du delta, près de Caraorman. Nous n'avons malheureusement pas pu nous rendre dans ce lieu. Nos stations de captures de Cardon, Sfiștofca, Rosetti et Letea, se trouvent sur les « grinduri » de Letea, tandis que, sur le « grind » de Saint-Georges, on ne trouve que cette localité. Dans le voisinage de Sfiștofca, une végétation extrêmement riche de salicornes nous a révélé la présence de terres salines.

Races d'anophèles dans le gouvernement de Tulcea

Localité	Date	*Maculip.*	*Messeæ*	*Atrop.* + *Labr.*
Jijila.				
Etable	27-8		18	
Maison	27-8		22	
Vacareni				
Etable	27-8		22	
Luncavita.				
Etable	27-8		24	
Maison	27-8		22	
Isaccea.				
Etable	27-8		22	
Cuisine d'été et logement	27-8		21	
Somova.				
Etable	27-8		27	
Maison	27-8		22	
Ciatalchioi.				
Etable, la nuit (chevaux)	28-8		25	
Maison habitée	28-8		21	
Lascar Catargiu.				
Etable avec bétail	28-8		23	
Maison habitée et cuisine d'été	28-8		23	
Patlageanca	28-8		20	
Mille 23.				
Etable avec bétail	1-9		13	
Maisons	1-9		27	

Localité	Date	*Maculip.*	*Messeæ*	*Atrop. + Labr.*
Sulina (rive gauche).				
Etable	30-8		16	
Maisons	30-8		2	
Etable	5-9		41	
Id. (rive droite).				
Maisons	30-8		7	
Etable	30-8		13	
Etable	5-9		35	
Région du phare	30-8		8	
Maisons, étable	30-8		21	
Cardon.				
Maison	31-8		17	
Etable	31-8		38	
Sfistofca.				
Etable	31-8		20	1
Letea.				
Etable	31-8		41	1
Maison	31-8		46	
Rosetti.				
Etable	31-8		32	
Saint-Georges.				
Partie intérieure de la localité, étable	3-9		38	1
Partie intérieure de la localité, maisons habitées	3-9		27	2
Extrémité du côté de la mer.	3-9	1	32	14

En ce qui concerne les conditions météorologiques des journées ci-dessus, qui sont quelque peu anormales pour la saison, nous donnons ci-après des extraits d'un tableau détaillé que M. Denouar, météorologue de la Commission internationale du Danube, a eu la grande amabilité de mettre à notre disposition.

Observations météorologiques a Sulina
(du 26 aout au 5 septembre 1933)

Date (1933)	Thermomètre sec			Thermomètre mouillé			Hygromètre (°/..)			Heures d'insolation	Pluie m/m.)	Moment
26-8....	20	24	17	16	17	16	54	32	90	15		
27-8....	19	22	19	17	20	16	76	78	68	11		
28-8....	16	19	17	14	16	14	79	73	70	11	Quelq. gouttes.	Nuit.
29-8....	16	19	19	15	15	16	83	67	73	8,30	3,18	Jour.
30-8....	18	19	19	17	19	19	90	93	93	0,40	1,59	Jour.
31-8....	17	17	16	17	17	15	93	93	90	»	1,62	Jour.
1-9....	18	22	17	16	21	16	80	86	93	7	1,59	Nuit.
2-9....	18	21	18	17	20	17	90	91	91	11		
3-9....	22	24	17	19	20	16	78	64	84	10,30	Quelq. gouttes.	Soir.
4-9....	17	17	14	16	15	14	80	80	93		3,18	Nuit.
5-9....	13	18	15	12	17	15	91	90	96	0,30	6,36	Nuit.

Il ressort de ces données que, dans le territoire situé entre Braïla et Tulcea, nous avons procédé à des captures par un temps très sec, par rapport à la région, tandis que les journées passées dans le delta du Danube même doivent être considérées comme « relativement humides jusqu'à très humides ».

Le résultat de nos captures est très remarquable. De Jijila, qui se trouve tout en haut de la région du Danube non divisé, en passant par la pointe du delta et son centre et jusqu'à la mer, près de Sulina, sur 522 pontes provenant de 28 captures, effectuées dans 10 localités différentes, on n'a trouvé que des *messeæ*.

Par contre, dans le grind de Letea, à Sfiştofca et à Letea, on a trouvé, dans chacune de ces localités, un spécimen de variété *atroparvus*.

Nous avons fait des découvertes encore plus intéressantes à Saint-Georges, où nous avons tout d'abord procédé à des captures dans la partie la plus éloignée de la mer, qui se rapproche de la lisière postérieure du grind, du côté du marécage, et où nous avons pu trouver, précisément, 3 *atroparvus*, alors que la sous-espèce tout à fait prédominante en cette région était celle des *messeæ* (3 sur 68). Une capture d'essai, opérée à cette fin dans la partie la plus orientale du côté de la mer et la plus éloignée du marécage d'eau douce, nous a, par contre, donné 14 *atroparvus* sur 47 anophèles. On voit donc, même lorsqu'il s'agit d'un seul et même village, le rôle important que joue la partie du territoire où s'effectue la capture. On suppose d'autre part qu'en choisissant judicieusement les emplacements, on aurait pu peut-être, même sur le grind devant Letea, trouver des fermes dont la faune anophélienne aurait accusé une proportion plus élevée de variété *atroparvus*.

4° Région de Constantza (14 et 15 septembre)

Le 14, la température était agréable et la journée ensoleillée; le 15 était plus frais, désagréable, le vent qui soufflait a amené des précipitations peu importantes.

Dans cette région (fig. 6), le littoral est généralement escarpé. Les anses de ce littoral sont séparées de la mer par une étroite bande de sable et sont devenues des lacs côtiers. Ces cordons de sable n'ont souvent qu'une largeur de 100 mètres à peine. L'eau de ces lacs n'a pas encore été examinée par nous. On y rencontre du sud au nord : le Tekir-Ghiol, au sud de Constantza ; les marais de Tăbăcăria, immédiatement au nord de Constantza ;

viennent ensuite le Siut Ghiol, contigu au précédent, et enfin le Tașaul Ghiol. Nous n'avons pas opéré de prélèvements d'eau de ces lacs aux fins d'analyse ; toutefois, à Urluchioi, l'abondance de salicornes attestait la teneur saline du lac. D'après ce qu'on nous a dit, le Tekir Ghiol est salin et sa teneur en sel est à peu près deux fois supérieure à celle de l'eau de mer avoisinante.

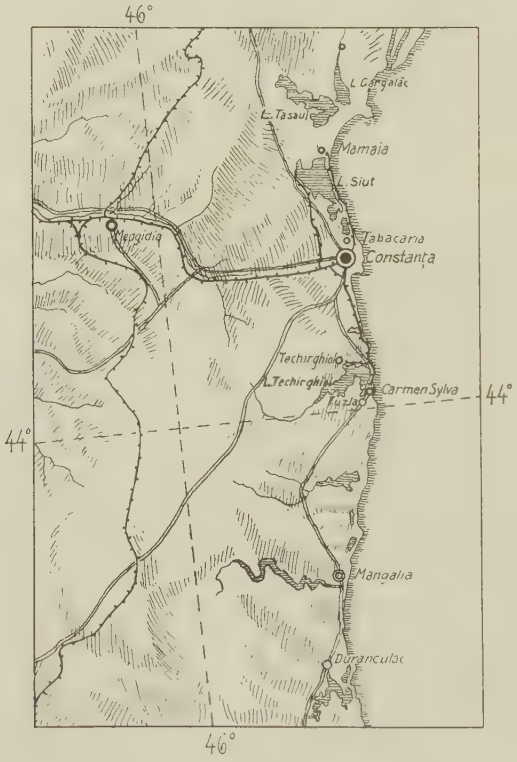


Fig. 6.

L'étable dans laquelle nous avons opéré des captures appartenait au sanatorium d'Eforia et se trouvait tout particulièrement près de la pointe nord du lac, séparée du Tekir-Ghiol par le chemin de fer. Les nombreux roseaux croissant à cet endroit indiquaient que la teneur de l'eau en sel était très réduite.

Au sujet du Siut Ghiol, on nous a dit qu'il avait d'abondantes sources d'eau douce d'un débit journalier d'environ 200.000 mètres cubes; aussi, son eau est-elle de l'eau douce. A en juger par la couleur du sol, cette eau semble fortement calcaire. Le

niveau du lac est, paraît-il, à peu près à 2 mètres au-dessus du niveau de la mer. En passant en voiture sur le cordon littoral, on peut, rien qu'à l'œil nu, se rendre compte d'une différence d'altitude qui est suffisante pour que les eaux d'écoulement du lac puissent actionner un moulin.

On nous a fourni, au sujet de la teneur en sel du lac Taşaul et du Siut Ghiol, la comparaison ci-après. Par évaporation à 110°, il restait:

	Tasaul	Siut Ghiol
Résidu solide	5,088 gr. ‰	0,577 gr. ‰
Chlore	2,201	0,100

Il est vrai que, dans le Taşaul même, la teneur en sel varie beaucoup. A l'extrémité nord-ouest du lac, où il y a un afflux d'eau douce (à peu près comme cela se produit à Urluchioi, dans le Tekir Ghiol), l'évaporation à 110° n'a donné que 0,776 gr. ‰ de résidu solide et 0,108 gr. ‰ de chlore. En trois autres endroits, par contre, on a obtenu les résultats ci-après :

Près de Luminita, 5,360 gr. ‰ d'éléments solides et 2,250 gr. ‰ de chlore ; près de Sibiora, 4,866 gr. ‰ d'éléments solides et 2,100 gr. ‰ de chlore.

A l'embouchure du canal venant du Siut Ghiol, on a relevé, le 15 avril 1931, 4,718 et 2,080 gr. ‰, et, par contre, le 10 mai 1931, 5,088 et 2,202 gr. ‰.

A notre connaissance, la teneur en sel du Tabacaria n'a pas été mesurée. Néanmoins, il se peut que cette petite cuvette isolée du Siut Ghiol ait une teneur en sel beaucoup plus élevée que ce lac. Nous devons les indications ci-dessus à l'obligeance du docteur Busnita et du docteur Gavrilescu, de l'Institut hydrobiologique de la Direction des pêcheries, auxquels nous tenons à exprimer ici nos remerciements les plus sincères pour l'aide qu'ils ont bien voulu nous apporter.

Gouvernement de Constantza

Localité	Date	*Maculip.*	*Messeæ*	*Atrop.*	*Elutus*
Urluchioi.					
Ecurie avec chevaux.....	14-9	4		11	1
Habitation	14-9	1		1	2
Tekir-Ghiol.					
Etable avec vaches, Eforia.	14-9		1	16	
Constantza-Tabacaria.					
Ecurie à chevaux.....	15-9	1	7	19	
Mamaia.					
Ecurie avec chevaux.....	15-9	1	6	3	
Navodari.					
Ecurie avec chevaux.....	15-9			26	

On constate nettement la prédominance de la variété *atroparvus*. C'est ici celui de tous nos lieux de capture où cette race domine nettement. C'est seulement au Siut Ghiol que les *messeæ* ont une supériorité numérique marquée, ce qui concorde bien avec le fait que l'eau du lac est douce.

Il y a lieu de relever, comme très remarquable, l'apparition de l'*A. elutus* dans la partie la plus méridionale de ces eaux, à Urluchioi où, d'après les résultats d'un sondage expérimental, — cependant insuffisant, — il représente 3/20es de la population anophélienne. Il y a lieu, toutefois, de se demander, étant donné qu'il s'agit d'une espèce aimant la chaleur, si la saison n'était pas déjà trop avancée pour qu'on puisse, par notre méthode, déterminer sa véritable proportion par rapport à la faune. Après la conclusion de notre travail en commun, l'un d'entre nous (Zotta) a relevé, en octobre, à Duranculac, plus au sud sur le littoral, un nombre plus considérable encore d'*elutus*. Les conditions orohydrographiques de cette région ressemblent beaucoup à celles d'Urluchioi : des lacs qui ne sont séparés de la mer que par un cordon de dunes.

L'apparition de la variété-type à quelques endroits est intéressante et, comme nous le verrons, elle se retrouve même dans la partie plus méridionale de la côte, près de Burgas.

Nous avons pu examiner un assez grand nombre d'anophèles de Burgas (1), qui ont été pris à peu près les mêmes jours que les moustiques capturés près de Constantza. On a choisi, dans la mesure du possible, un milieu correspondant à celui du Tekir Ghiol. Ici, l'*elutus* est tout à fait prédominant. On n'a pas trouvé d'*atroparvus* qui paraît être complètement éliminé par l'*elutus*. Il y a lieu de relever le fait remarquable qu'on a trouvé parmi eux un *messeæ* et 4 *maculipennis* sur 77 pontes, proportion qui correspond au mélange que l'on constate plus au nord, dans la faune des *atroparvus*. On a trouvé des œufs *d'elutus* avec et sans flotteurs.

(1) Nous devons ces anophèles à la complaisance du docteur Sliwensky et du professeur Konsuloff, de Sofia, qui se sont procuré les moustiques et les ont mis à la disposition du professeur Martini, lorsque celui-ci a traversé Sofia. Les moustiques ont été ensuite isolés à Hambourg et certains d'entre eux, déjà au cours du voyage, dans des boîtes de Barber. Nous adressons nos plus vifs remerciements à nos collaborateurs bulgares.

Conclusions générales

En récapitulant les constatations que nous avons pu faire au sujet de la répartition des races de l'*A. maculipennis* en Roumanie, on s'aperçoit que la situation concorde exactement avec celle de l'Allemagne, où, toutefois, on n'a pas encore trouvé d'*A. elutus*.

Dans ces deux pays, l'*A. messeæ* est le moustique des grandes régions d'eau douce pure des lacs et des cours d'eau ; l'*A. atroparvus,* le moustique des cordons littoraux (« Nehrung »), notamment dans les endroits où, derrière le littoral, il y a de l'eau saumâtre, mais aussi le moustique des eaux salées de l'intérieur ; on a observé que l'*A. m. maculipennis* constitue une forte proportion de la faune des montagnes et, en outre, qu'il se trouve, çà et là, mélangé tantôt avec des *messeæ* et tantôt aussi avec des *atroparvus*. Dans l'ensemble, ces grandes lignes de répartition des races ressortent bien plus clairement de nos constatations en Roumanie que des constatations faites en Allemagne.

La présence presque exclusive d'*atroparvus* dans le Tekir Ghiol et dans le Taşaul Ghiol, si on la compare à la prédominance des *messeæ* au Siut Ghiol, montre avec une rigueur toute expérimentale le rôle décisif que joue la teneur de l'eau en sel. Ces formations lacustres, qui se trouvent dans des régions semblables ayant le même climat, et dont la situation par rapport au littoral et à la mer est identique, ne se différencient que par les abondantes sources d'eau douce du Siut Ghiol qui en diminuent la teneur en sel et qui manquent aux autres lacs salés. Sans doute, cette différence a-t-elle de très sensibles répercussions sur la flore et la faune, et peut-être que ce sont surtout ces contrastes qui exercent une aussi puissante influence sur la faune anophélienne; c'est ce qu'à l'heure actuelle, nous ignorons encore. Toutefois, il est manifeste, en dernière analyse, que c'est la différence dans la composition de l'eau qui constitue le facteur décisif.

Sans doute, trouve-t-on dans le Siut Ghiol des *atroparvus,* çà et là disséminés, et il n'y a pas autrement lieu de s'en étonner, car l'*atroparvus* est très fréquent dans les environs. Cependant, l'absence de *messeæ* semble plutôt indiquer que cette variété ne peut, pour ainsi dire pas du tout, subsister dans l'eau salée et dans les conditions de vie de ce milieu (« biocoenose »); mais que, par contre, ce principe ne semble pas s'appliquer aussi rigoureusement à l'*atroparvus* en ce qui concerne la façon dont il se comporte dans l'eau douce pure. Si on supposait que, seul,

l'*A. messeæ* pullule dans l'eau douce pure et, par conséquent, élimine l'*atroparvus*, il serait relativement facile d'apercevoir nettement la ligne de démarcation qui sépare ces deux variétés. Cependant, on devra admettre qu'il existe des eaux à très faible teneur en sel dans lesquelles les deux variétés peuvent prospérer côte à côte. En effet, même si l'*A. messeæ* rencontre — peut-être seulement pendant l'été — certaines conditions qui peuvent entraver son développement, ce dernier pourra s'effectuer par la suite. Pour le moment, il ne s'agit ici naturellemnt que de pures hypothèses sur lesquelles, pour cette raison, il convient de ne pas s'étendre.

La théorie selon laquelle l'*A. maculipennis* (type) peut avoir quelque rapport avec les surfaces d'eau ombragées ou les eaux de source, concorderait assez avec nos observations en Roumanie. Sa prédominance presque exclusive à ces altitudes inférieures à 500 mètres, comme près de Poeni, n'est pas corroborée en Allemagne par une constatation parallèle. Il vaudra mieux, en ce cas, s'abstenir d'hypothèses jusqu'à ce que nous possédions des informations sur la diffusion de ces variétés dans une région à climat continental (Russie du Sud-Est).

Sur les bords de la mer Noire, comme à l'embouchure du Pô, l'*A. elutus* empiète sur le territoire de l'*A. atroparvus*. Toutefois, à Constantza, on n'a pas encore trouvé de *labranchiæ* typiques, et de même à Burgas, on n'a trouvé ni *labranchiæ* ni *atroparvus*. Il semble donc que les véritables *labranchiæ* manquent ici complètement. La question de cette race devient ainsi de plus en plus intéressante.

Près de Burgas, sur la côte, on a également trouvé des *A. maculipennis maculipennis*.

VI. — *ERREURS*

Dans les sciences naturelles inorganiques, il est très souvent nécessaire de calculer, pour les observations qu'on communique et les conclusions qui en découlent, l'amplitude des erreurs possibles. Toute observation scientifique de cette nature a des sources d'erreurs et tout calcul n'est exact que sous certaines réserves. Ces principes devraient également s'appliquer aux disciplines médicales. En réfléchissant aux sources d'erreurs inhérentes à un résultat scientifique, en songeant à l'importance des répercussions de cette erreur par rapport aux résultats mêmes et en se

demandant surtout s'il subsistera quelque chose du résultat, compte tenu du degré d'incertitude qu'il présente, les auteurs auront tendance à exercer sur eux-mêmes une sévère critique qui leur montrera les résultats obtenus dans leur véritable perspective et les empêchera de publier un certain nombre d'ouvrages absolument insignifiants.

En recherchant les erreurs que comportent les résultats, nous remonterons aux causes qui les font naître.

Prélèvement des spécimens

Dans quelle mesure les spécimens prélevés, quel que soit leur nombre, peuvent-ils être considérés comme représentant la composition réelle de la faune anophélienne ?

Si tous les moustiques qui se trouvent dans un local sont capturés, ils représentent naturellement la faune réellement présente. On s'efforce très fréquemment d'obtenir ce résultat dans les habitations et dans d'autres locaux; néanmoins, on ne peut jamais l'atteindre complètement. Certains moustiques échapperont toujours à l'observation, soit par hasard, soit parce qu'ils sont particulièrement bien dissimulés. Etant donné que, probablement, cela se produit plus souvent pour les petits spécimens que pour les grands, on relève ici déjà une source d'erreur possible. Aussi, avons-nous essayé de prêter une attention toute particulière aux petits spécimens.

Si l'on ne capture pas tous les anophèles qui se trouvent dans un local, par exemple parce qu'ils sont très nombreux et qu'en les capturant tous on remplirait de nombreuses boîtes au prix d'une grande perte de temps, la composition de la faune capturée ne reflète pas *ipso facto* celle de la totalité de la faune du local en question. La plupart du temps, on capture les moustiques aux endroits où ils se trouvent en groupes plus compacts, c'est-à-dire vers le haut des murs et sous le toit, ou au plafond, dans les coins, etc. Or, si la faune est mélangée et se compose d'*A. maculipennis* et d'*A. pseudopictus,* le résultat d'une telle capture donnerait incontestablement une fausse idée de la faune. En effet, les *A. pseudopictus* ont tendance à se poser à mi-hauteur ou à la partie inférieure des parois. A la partie supérieure du local se trouvent, la plupart du temps, 95 % et plus de tous les *maculipennis,* mais à peine 50 % des *pseudopictus.* Or, ce n'est que dans quelques cas qu'on a pris particulièrement soin de capturer également des moustiques qui se trouvaient vers la

partie inférieure des parois. C'est pourquoi, en ce qui concerne la proportion des *A. pseudopictus* par rapport à la totalité de la faune, les marges d'erreurs sont si considérables qu'il est préférable de ne pas tirer de conclusions de nos chiffres, d'autant plus que, dès le moment de la capture, nous avons évité, dans la mesure du possible, de prendre ces moustiques dont les pontes nous intéressaient peu. Toutefois, lorsque, dans toute une région, il n'est pas fait mention de pontes d'*A. pseudopictus,* on peut conclure que cette espèce, tout au moins dans les locaux où la capture a été effectuée, était très peu représentée ou faisait même complètement défaut.

Comme les captures d'anophèles effectuées dans les habitats exclusifs des races que nous avons étudiées semblent montrer que, dans les locaux, certains emplacements tout à fait analogues paraissent être préférés par eux tous, la marge d'erreur en ce qui concerne la proportion des diverses races par rapport au total de la faune est sans doute assez restreinte (pour les remarques spéciales à ce sujet, voir p. 55). En vue d'atténuer l'erreur provenant du fait que les races auraient pu être réparties à divers endroits en groupes d'inégale densité, nous avons, dans les étables, procédé le plus souvent à plusieurs captures effectueés à différents emplacements et, fréquemment, à des hauteurs tout à fait diverses, de sorte que des différences de ce genre se trouveraient en partie compensées par le mélange.

Dans quelle mesure la capture effectuée dans une étable ou dans une maison représente-t-elle la faune totale d'une localité ou du territoire d'une localité ? Là-dessus, le plus grand scepticisme paraît indiqué. Tel est aussi notre avis. Le seul fait que la répartition proportionnelle d'une capture effectuée dans les maisons d'un village peut être tout autre que celle d'une capture effectuée dans les étables, montre tout de suite de quelle prudence il y a lieu d'user pour tirer des conclusions; aussi, des captures ont-elles été fréquemment effectuées dans un certain nombre de maisons, de manière à compenser par un mélange les différences qui pourraient exister entre les diverses maisons. Pour les étables, on a plus rarement employé cette méthode. On pourrait déjà relever des différences entre des étables appartenant à des propriétés voisines. Nous devons admettre qu'entre des propriétés sises sur le territoire de villages étendus et très éloignées les unes des autres, ces différences doivent être assez considérables, puisque, selon notre hypothèse, la faune des moustiques est déterminée par les conditions hydrologiques. Au

surplus, les constatations que nous avons faites à Saint-Georges confirment très nettement cette supposition. Néanmoins, ce n'est que très rarement que nous avons prélevé des spécimens dans des parties tout à fait différentes d'un village pour les examiner ensuite isolément; cette opération a été effectuée, par exemple, à Sulina dont la faune était particulièrement importante pour nous. Aussi, faut-il reconnaître que, si l'on examine un village donné, on peut, non sans quelque raison, reprocher à notre résultat son caractère fortuit. Pourquoi n'avons-nous pas éliminé, dans la mesure du possible, cette source d'erreur en mélangeant des moustiques provenant de diverses parties du même village ? C'est parce que, même dans ce cas, nos résultats n'en auraient pas moins présenté une incertitude considérable, pour des motifs d'ordre purement statistique. On n'aurait donc rien gagné à recourir à cette méthode, précisément dans les villages à faune mixte. En effet, dans de nombreux cas, nous n'avons isolé que 30 moustiques et, dans d'autres, 60 provenant d'un seul et même village. Dans le premier de ces deux cas, le nombre des pontes obtenues atteint presque toujours environ 22 à 25 et dans le deuxième cas, à peu près 40 à 47. Au moment de l'isolement, les moustiques ont été, en règle générale, pris au hasard et sans choix. Or, dans quelle mesure une expérience portant sur 24 ou (dans le deuxième cas) 44 pontes permet-elle de se faire une idée exacte de la composition réelle du groupe de 250 moustiques à peu près que contient la cage ? Le calcul des erreurs nous donne une réponse : cette exactitude est très faible, si faible même que, si pour 23 pontes nous trouvions à peu près 14 *messeæ,* et 9 *atroparvus,* nous pourrions tout juste constater que les *atroparvus* constituent une proportion sensible de la faune; mais nous ne pourrions même pas dire s'ils ne constituent pas en réalité la majorité, s'ils ne représentent effectivement qu'à peu près le quart environ de la faune ou même moins encore. Si pour 42 pontes, nous avions 4 pontes d'*atroparvus,* nous constaterions la présence de cette variété et nous pourrions, avec quelque certitude, conclure que sa proportion n'atteindra pas un quart de la faune. Lorsqu'il s'agit d'une faune mixte, les divers prélèvements expérimentaux ne donnent que des indications très vagues quant à la répartition du mélange des diverses races.

Un exemple pratique met en lumière cette banalité dont malheureusement tous les biologues ne tiennent pas suffisamment compte : des moustiques en provenance de Podul Iloaiei

ont été, pour la ponte, séparés en deux lots, à Bucarest, dans une boîte Barber que nous avions prise avec nous. Les moustiques de cette boîte nous avaient donné, aux dates ci-après, les résultats suivants :

Date	*Mac.*	*Mess.*	*Atroparvus*	*Atroparvus* %
18-8.....	2		6	75
20-8.....	6	1	7	50
23-8.....	9	1	10	50

Par contre, nous avons trouvé, dans l'ensemble des spécimens recueillis : 23 *maculipennis*, 1 *messeæ*, 13 *atroparvus*, soit 35 % d'*atroparvus*.

Il en va quelque peu autrement lorsque, dans 20 à 50 pontes environ, on constate l'absence complète d'une variété. Cela ne prouve naturellement pas encore qu'il n'y avait aucun spécimen de cette variété dans l'ensemble des insectes capturés, mais on peut toutefois déduire, avec assez de certitude, que cette variété n'y était que très faiblement représentée et que sa proportion, par rapport au total, ne dépassera presque sûrement pas 10 %. Tout collectionneur d'insectes sait que si, parmi des centaines de spécimens d'une espèce commune, on n'a pas encore relevé la présence d'une espèce rare qui vole de compagnie avec l'espèce commune, cela ne signifie nullement que cette espèce rare n'apparaît jamais avec l'espèce commune.

Il ressort des considérations ci-dessus que, si l'on avait mélangé les captures provenant de diverses parties du village, les pourcentages obtenus n'auraient guère été plus exacts au cas où la variété plus rare aurait été médiocrement représentée. Par contre, le collectionneur n'ignore pas que si des variétés paraissent souvent très rares, c'est qu'on n'a pas procédé à des captures au bon emplacement. Comme le montre l'exemple de Saint-Georges, la découverte des variétés plus rares peut donc, si l'on procède à des captures en différents endroits, être facilitée dans une certaine mesure, mais certainement aussi entravée dans d'autres cas.

La marge d'erreur provenant du fait que l'on n'opère souvent des prélèvements que dans une seule étable, dans une seule maison ou dans quelques maisons voisines, se trouve toutefois fortement réduite du fait que l'on obtient des résultats analogues dans divers villages dont la situation est similaire. En effet, dans une région telle que celle du Danube non divisé, nous avons, en fait, recueilli des insectes dans 9 lieux de capture et obtenu toujours le même résultat.

Evidemment, il n'est pas, malgré cela, impossible qu'il y ait, en un endroit quelconque de la localité, des gîtes à larves de *maculipennis* et qu'on capture à leur proximité quelques exemplaires isolés de cette race. Toutefois, au point de vue pratique que nous étudions, cette constatation n'aurait, pour le moment, aucune importance, car une espèce d'anophèles dont le pourcentage par rapport à l'ensemble de la faune est si faible que les chiffres absolus de la dite espèce ne sauraient être, sauf à quelques exceptions près, assez élevés pour retenir l'attention, ne peut être considérée comme un sérieux vecteur du paludisme.

Ce qui précède montre qu'il est nécessaire de se souvenir que nos résultats indiquent surtout l'incidence relative et non absolue des espèces. 2 %, dans une région où il y a vingt fois plus d'anophèles représentent naturellement beaucoup plus que 10 % dans une région où il y en a 20 fois moins. Nous reviendrons plus tard sur ce point.

Ce qui importe plus encore que la question de savoir si une race est plus fortement représentée dans une partie d'un village que dans une autre, c'est celle de déterminer si une race recherche plus qu'une autre les locaux fermés. Sur ce point, nos connaissances en sont encore à la période de tâtonnement. Aucune des races que nous avons examinées n'est manifestement aussi endophile que le veut Roubaud, tout au moins dans les conditions des contrées méridionales (voir p. 58). L'évaluation de l'incidence absolue d'une race d'après notre méthode peut être, de ce fait, sujette à de graves erreurs dont nous avons, ci-dessus, signalé l'amplitude.

Malgré cette source d'erreur très considérable, nous croyons que, tout particulièrement, la concordance des résultats obtenus dans des régions semblables au point de vue hydrographique, de même que la concordance de ces résultats avec ceux d'autres pays, corroborent fortement nos conclusions principales.

Enfin, il convient encore de noter que nos résultats ne visent que le plein été et que cette période n'est pas très éloignée du passage à l'hivernage. Il serait très concevable que les résultats obtenus au cours d'une autre saison pussent différer quelque peu des nôtres. Peut-être donnerons-nous ailleurs des renseignements sur ce point.

Il ressort de tout ce qui précède que les conclusions qu'apporteront les pages suivantes comportent encore un considérable élément d'incertitude et qu'il sera nécessaire de procéder encore à des études approfondies.

VII. — *DIVERSES OBSERVATIONS SUR LES MOUSTIQUES*

Nous commencerons ce chapitre par quelques observations concernant la *Mansonia richiardii* et notamment le *Culex modestus,* ainsi que l'*Anopheles pseudopictus,* parce qu'elles nous donnent des aperçus peut-être applicables aussi à *l'A. maculipennis.*

Mansonia richiardii.

C'est un moustique fréquent dans le pays. Nous l'avons trouvé dans les cours d'eau des steppes, ainsi que dans le delta du Danube. Au cours de notre séjour à Gurbănesti, nous avons recueilli un soir, sur les bords d'un étang couvert de roseaux, tout d'abord des larves d'anophèles et, ensuite, des moustiques. Ce soir-là, le 28 septembre, les *Culex modestus* s'éveillèrent et commencèrent à voler au moment où le soleil était si bas derrière les collines de la rive que ses rayons ne nous atteignaient plus. Ce n'est que sensiblement plus tard, à la nuit tombée, que les *Mansonia* prirent leur vol, qui s'intensifia de telle manière que l'un de ceux qui nous accompagnaient insista, vers 20 h. 1/2, pour que nous prenions le chemin du retour après que nous eûmes capturé bon nombre d'insectes.

Le lendemain, nous nous rendîmes, après le souper, tout d'abord à d'autres endroits où nous ne remarquâmes rien, sauf quelques rares *C. modestus,* puis ensuite à l'emplacement que nous avions quitté la veille au soir. Or, ce jour-là, vers 21 heures à peu près, nous ne trouvâmes rien à capturer. Je ne pus moi-même continuer ces observations; mais le professeur Reichenow, qui demeura à Gurbănesti, m'a raconté que, par la suite, ses compagnons et lui s'étaient toujours mis en chasse avant le souper, que le *modestus* se mettait toujours à piquer avant la tombée de l'obscurité et que, la plupart du temps, peu après 20 heures, on n'en voyait plus voler beaucoup.

Il y a lieu de signaler que, dans la propriété de la station malariologique et de l'hôpital qui, à vrai dire, est à une assez grande altitude et à environ 160 km. de la mer, nous n'avons jamais été, cette année, importunés le soir par des moustiques. Il paraît que, dans une autre saison, il en a été tout autrement. On doit donc admettre que ces insectes importuns appartenaient

aux espèces *Aedes* (vraisemblablement des *vexans* et des *caspius* dont on sait qu'ils survolent les terres) ou que, dans une autre saison, le *M. richiardii* ne se comporte pas de la même manière qu'au moment où nous nous trouvions dans le pays. Selon Zotta, ce moustique fait son apparition en mai et vole jusqu'en septembre. Aussi ne semble-t-il guère probable que le *M. richiardii* figure parmi les moustiques qui, comme on l'a dit plus haut, se montrent si importuns à Gurbănesti.

En ce qui concerne la manière dont se comporte le *Mansonia* dans le delta, nous lisons, dans Zotta, que c'est le moustique le plus désagréable du delta. « Certaines années, ces moustiques apparaissent en véritables nuées, soit seuls, soit accompagnés de *A. pseudopictus*. En 1926, leur nombre était vraiment impressionnant. Il suffisait de s'arrêter quelques minutes dans la rue, dans un espace découvert ou au milieu du village pour en avoir de véritables essaims autour de la tête. Les *Mansonia* piquent certainement le jour, comme vers le soir, au crépuscule ou pendant la nuit et vers le lever du jour.

« Vers le soir, la combativité des *Mansonia* augmente tant qu'on est obligé de les chasser presque constamment du geste. Si, à partir de 6 heures du soir, on veut aller jouir de la fraîcheur de l'air dans les dunes, on est immédiatement entouré de petits nuages de *Mansonia* qui, en un seul et même instant, se posent et piquent. C'est un tableau caractéristique que celui des groupes de promeneurs sortis à la fraîcheur, qui agitent constamment des mouchoirs, des voiles, etc., pour se défendre contre ces insectes. La ville de Sulina offre, à cet égard, un exemple édifiant, ainsi que n'importe quel marché de poissons à l'intérieur du delta, où même des personnes qui résident depuis longtemps dans le pays et sont plus ou moins immunisées contre les piqûres de moustiques, agitent automatiquement et sans arrêt un mouchoir autour de leur tête, sans se laisser distraire de leur travail habituel. »

Cet exemple suffit à nous montrer que, dans le delta, le *Mansonia* vit tout autrement qu'à Gurbănesti. Nos observations de cette année le confirment une fois de plus. En effet, nous avons constaté que ce moustique piquait devant un café, un jour de pluie, à 7 heures du matin. Le 3 septembre, jour où il ne pleuvait pas, il piquait dans une plaine de sable, derrière les dunes, à 17 heures, par conséquent en plein soleil. De plus, ce moustique n'est nullement rare dans les maisons, tant au nord, aux alentours de Letea, qu'au sud du delta, à Saint-Georges, où, à certains

endroits, les *Mansonia* sont plus nombreux dans les maisons que les anophèles. Parfois, ces moustiques nous ont attaqués au logis. Le 31 août, jour où il avait beaucoup plu (il avait commencé à pleuvoir fortement le 29 août et la pluie n'a cessé temporairement que le 31, vers 15 heures), nous avons trouvé également de nombreux *Mansonia* dans les étables. Celles-ci ne sont, à vrai dire, que de simples abris composés d'un échafaudage qui supporte le toit de chaume ou de roseaux, et de deux parois faites en cloisonnage ou en argile ou même en roseaux, du côté du nord; les deux autres côtés sont ouverts. Parfois, ce sont de véritables étables ayant quatre murs imperméables. Dans une de ces dernières étables, nous avons été fréquemment piqués par des *Mansonia* pendant que nous capturions des anophèles et, à Rosetti, cela nous est arrivé même à 13 heures. Comparons la période de vol exclusivement nocturne relevée à Gurbănesti, et l'activité diurne dans le delta, à la manière dont se comporte cette espèce, par exemple aux beaux soirs d'été en Allemagne. Ici, elle ne commence, comme par exemple à Kaninchenwerder, à ne devenir importune que vers le soir, mais pourtant déjà avant le coucher du soleil.

Quelle est donc la cause de ces différences ? Une comparaison de l'humidité de l'air dans le delta pendant la journée, et du tableau relatif à l'humidité de l'air à Bucarest et à Sulina, nous permet de supposer que cette humidité joue, à ce point de vue, le rôle le plus important. Kaninchenwerder peut être considéré ici comme représentant un juste milieu. Au moment des observations, il y avait à Sulina environ 90 % d'humidité relative même au milieu de la journée; à Gurbănesti, sans doute, une humidité relative de 40 % environ au milieu de la journée, et à Schwerin à peu près 60 % au milieu de la journée au cours de la période d'observation.

A. pseudopictus.

Durant les soirées où nous procédions à des captures dans les roseaux aux environs de Gurbănesti, nous n'avons pas été attaqués par cette espèce. Nous ne pouvons dire si elle est absente au bord des cours d'eau des steppes. Nous en avons capturé tout aussi peu en Moldavie. Par contre, nous l'avions rencontrée dans la région du Danube, à Somova. D'après Zotta, elle pénètre dans la vallée du Danube jusqu'à Braïla et Macin, mais se retrouve beaucoup plus à l'ouest, dans le département de Dolj. Peut-être ne risque-t-on pas de se tromper en supposant que

cette espèce est partout présente où, le long du Danube, se trouvent de nombreux bras morts et des marécages. D'après Zotta, elle est rare à l'intérieur du pays (captures dans le département de R. Sarat et à Bucarest). Par contre, selon le même auteur, on la retrouve à Cetatea Alba, dans la zone de l'inondation et de l'embouchure du Dniestre.

Dans le delta même, nous l'avons rencontrée extrêmement souvent; du reste, Zotta considère également que le delta est son véritable foyer. Nous l'avons trouvée partout en grand nombre dans les étables et en nombre relativement beaucoup plus grand encore dans les maisons.

Dans nos listes, nous indiquons comme provenant des maisons, 23 *pseudopictus* sur 179 pontes, et comme provenant des étables, 12 *pseudopictus* sur 240 pontes; il est vrai que nous n'avons tenu compte, dans ce calcul, que des étables des villages où il a été procédé, le même jour, à une capture parallèle dans les maisons. La proportion d'*A. pseudopictus*, par rapport au nombre des pontes, a donc été de 13 % pour les maisons et de 5 % pour les étables. Ces chiffres n'ont pas une grande signification en ce sens que les anophèles, comme nous l'avons dit plus haut, étaient souvent isolés, et que nous avons fréquemment évité de capturer les *pseudopictus*, surtout dans les maisons où on les remarquait mieux que dans les étables. Selon l'impression générale, la différence était encore beaucoup plus marquée que ne le font ressortir les chiffres des pontes.

Le fait que l'*A. pseudopictus* se détache presque perpendiculairement de la surface sur laquelle il est posé permet de le reconnaître au premier coup d'œil sur une paroi verticale. On connaît déjà sa tendance à se poser sur la partie inférieure des parois : Massarosa, en Italie. Ce qui nous intéresse ici, c'est que, dans le delta du Danube, l'*A. pseudopictus* montre une préférence relative pour les habitations, alors qu'à Massarosa le nombre non seulement absolu, mais encore relatif, des *pseudopictus* est beaucoup plus élevé dans les étables que dans les chambres à coucher.

Dans nôtre chambre d'hôtel, les moustiques qu'on trouvait le soir étaient pour la plupart des *pseudopictus*. Un soir, ils se posèrent sur une ceinture que son propriétaire venait de quitter et essayèrent de piquer. Ces anophèles venaient également le soir pour piquer dans les auberges et les cafés de la localité, après avoir franchi le Danube en venant du nord, ou après avoir survolé la ville en venant du sud.

Au cours de nos voyages, nous avons été notamment assaillis par un nombre particulièrement considérable de *pseudopictus*, le 31 août dans la matinée, à Sfiștofca; le ventre des chevaux, après un arrêt de quelques minutes, se trouve recouvert d'une quantité innombrable de ces anophèles, si bien que les chevaux semblaient soudain revêtus d'une longue et rugueuse toison. Les moustiques attaquaient aussi les hommes, mais beaucoup moins. Ils se posaient en nombre assez grand sur la vareuse du cocher, par contre ils s'en prenaient moins aux manteaux de caoutchouc (parce que la transpiration ne pouvait pas passer ?).

Cette attaque s'est produite, pendant la pluie, sur une étendue de sable nullement proche des gîtes à larves. Les moustiques devaient avoir été dissimulés en nombre incalculable dans les broussailles et les herbes. Leur nombre était surtout considérable lorsque nous passions entre les herbages ou les buissons assez élevés ou le long d'une haie. Par conséquent, il semble que ce soit dans ces endroits que gîtent les *A. pseudopictus* pendant la journée.

Le temps s'étant éclairci l'après-midi, le nombre des insectes a été beaucoup moins grand au cours du voyage de retour. De même, dans les sables qui se trouvent près de Saint-Georges, on a vu paraître, il est vrai, quelques *pseudopictus* le 3 septembre, mais on ne peut nullement parler d'une attaque en masse.

Dans l'ensemble, nous n'avons remarqué que peu d'espèces *Aedes*, surtout des *A. vexans* et des *A. caspius*. Il est superflu d'entrer dans le détail de cette question.

A. maculipennis.

Dans les étables, c'est très rarement que nous avons rencontré ces moustiques en petit nombre; la plupart du temps il y en avait en quantité. Par contre, dans un grand nombre de maisons et dans les habitations de plusieurs quartiers du village, ils étaient peu nombreux. En aucun cas, nous n'avons effectué de captures dans toutes les maisons d'un village. Nous avons examiné un asez grand nombre de maisons à Sulina et au Mille 23, dans le delta. Les résultats rappelaient les observations que nous avions faites avec Hackett et Missiroli, en ce sens que, si dans certains logements, nous n'avons pas pu capturer un seul moustique, dans d'autres, par contre, nous en avons attrapé quelques-uns et parfois même un nombre important (jusqu'à 20 ou davantage). Dans les salles de malades de Socola, on a pu facilement

recueillir un grand nombre d'anophèles (variété *maculipennis*).

Les différences qu'on relève, quant au nombre des anophèles dans les chambres, s'expliquent par plusieurs raisons; il faut, en premier lieu, rechercher si ces chambres sont habitées, et, en second lieu, si, durant les heures de vol des anophèles, les fenêtres ont été ouvertes ou les locaux autrement accessibles. Dans la plupart des régions que nous avons visitées, les habitants dorment devant leur maison et dans les cours. Si nous n'avons obtenu qu'un très petit nombre d'œufs des moustiques de maisons capturés en de nombreux endroits, c'est manifestement que les habitations ne servaient aux anophèles que pour s'abriter et non pas pour s'alimenter.

Très souvent, nous avons également trouvé des anophèles au-dessous des toits en saillie, mais à cet égard, la situation se modifiait d'un jour à l'autre, et l'on avait l'impression que, pendant les journées sèches et chaudes, il n'y en avait pour ainsi dire pas. Par contre, nous avons trouvé un nombre remarquablement faible d'anophèles dans quelques villages, sur la rive élevée du Danube. L'un d'entre nous (Zotta) qui connaissait la région depuis longtemps, nous a dit qu'il ne reconnaissait plus ses anciens foyers de paludisme. Peut-être y a-t-il lieu de faire immédiatement observer ici que l'air était sec en cette journée, qui succédait à un certain nombre de journées très sèches (voir p. 38). Peut-être ce phénomène contribuait-il à l'absence d'anophèles.

A Isaccea, nous avons remarqué également qu'il n'y avait qu'un nombre relativement faible d'anophèles dans l'étable. Celle-ci était vide et, pendant la nuit, le bétail demeurait dans la cour devant l'étable. Par contre, nous avons trouvé une grande quantité d'anophèles dans la cave ouverte de la maison qui était beaucoup plus fraîche et plus humide. Lors de la capture, on a remarqué parmi les moustiques de l'étable un très grand nombre d'insectes fraîchement repus et, parmi les moustiques de la cave, une très grande majorité de femelles chez lesquelles le développement des œufs était très avancé.

Dans le bas d'un grand pailler, une petite cavité avait été pratiquée et aveuglée au moyen de planches; un porcelet y avait été logé. Un coup de bâton appliqué sous la voûte de la cavité fit s'envoler un grand nombre d'anophèles. Cet emplacement comptait manifestement un nombre relativement beaucoup plus grand de moustiques que les étables en ces journées chaudes et sèches.

De même dans les glacières, nous avons trouvé d'abondantes

quantités d'anophèles en deux endroits : au-dessus de la couche de glace protégée par de la litière contre le mur, et au-dessous du toit de chaume. On a absolument l'impression que, par temps très chaud, ces insectes préfèrent les gîtes plus frais.

De telles différences entre les états physiologiques prédominants en divers emplacements ressortent également des dénombrements opérés à Gurbănesti et au Mille 23:

Lieu de provenance	A jeun	Contenant du sang et des œufs				Gras	
	⌒	●	●	●	●	○	♂
Huttes ouvertes servant d'abri la nuit	12	23	20	13	2		17
Maison inhabitée	1		3	16	17		1
Etable 248, moustiques normalement répartis	23	37	55	51	49	7	25
Etable où les anophèles étaient posés dans les parties inférieures	46	17	42	80	69		3
Mille 23, Maisons	34	96	56	20	10		46

Ce sont surtout les deux étables de Cotofeanca qui présentent une grande différence, car il y a eu manifestement, dans la deuxième, un exode progressif de femelles qu'on n'a pas constaté dans la première. On a trouvé dans celle-ci, pour 96 femelles qui s'étaient gorgées récemment, 10 qui portaient des œufs arrivés à maturité et, dans l'autre, pour 37 femelles qui venaient de s'alimenter, 49 qui portaient des œufs arrivés à maturité. Martini et Teubner ont admis l'hypothèse que les conditions déterminant cet exode se trouvaient réunies lorsque, dans le lieu de capture, la chaleur est trop forte ou le degré d'humidité trop faible : l'emplacement où étaient posés les anophèles a semblé justifier cette théorie. Alors que l'étable où l'on a constaté un fort exode de moustiques n'avait pas de toit intermédiaire et que les insectes y étaient presque tous groupés sur la paroi nord, dans l'autre étable, qui avait un toit intermédiaire, ils étaient répartis surtout entre trois des coins de l'étable. Ainsi, l'emplacement que les moustiques préfèrent d'habitude ne leur convenait manifestement pas dans la première étable.

La hutte ouverte présente des conditions tout à fait analogues à celles de l'étable sèche, tandis que les habitations, où la température est plus basse et le déficit de saturation manifestement plus faible, ne semblent recevoir que plus tard la visite d'anophèles qui, porteurs d'œufs à moitié parvenus à maturité, ont abandonné des emplacements ne leur convenant pas.

Si l'on tient compte de la très grande différence que peut présenter la composition de la faune anophélienne à divers stades physiologiques, dans deux étables assez semblables par leur construction extérieure, il est compréhensible que si l'on mélange des insectes capturés dans plusieurs étables, des indices essentiels tendent nécessairement à s'effacer. C'est encore plus vrai, naturellement, pour les habitations.

Il sera donc préférable, à l'avenir, de ne plus établir de comparaison entre les conditions que présentent, dans l'ensemble, les moustiques trouvés dans des habitations, d'une part, et dans des étables, d'autre part; il vaudra mieux les indiquer séparément en notant les éléments microclimatologiques du local, et comparer entre eux des étables et des locaux d'habitation présentant des conditions identiques ou analogues.

Il est frappant que l'*A. pseudopictus,* espèce plus sauvage que les autres, ait tendance à se poser au bas des murs, alors que, chez la variété *messeæ,* cette tendance n'existe que si l'air est chaud et sec.

L'endophilie, au sens de Roubaud, selon qui l'*A. maculipennis* ne piquerait que lorsqu'il se trouve dans une pièce close, est certainement inexistante chez l'*A. maculipennis* roumain. En effet, bien que le bétail passe la nuit au dehors et que les personnes ne restent pas à l'intérieur, elles non plus, on trouve d'innombrables anophèles gorgés; il est donc certain que ceux-ci ont piqué en plein air.

Nous avons préparé des frottis à l'aide d'insectes provenant de maisons de Gurbănesti, de locaux où séjournaient des malades à Socola, ainsi que du Mille 23, de Rosetti, de Letea et de Sfiștofca. Les résultats sont groupés dans le tableau ci-dessous :

IDENTIFICATION DES ÉCHANTILLONS DE SANG D'APRÈS LA MÉTHODE DES PRÉCIPITINES (+)

Date (1933)	Lieu de capture	Partie du bâtiment	Quantité de sang insuffisante	Echantillons de sang n'ayant pas donné de réact.	Echantillons de sang ayant donné une réaction positive en présence d'antisérums de						Dont réactions doubles
					homme	porc	bœuf	cheval	chien	mouton	
13-8	Socola.	Pavillons	2	6	34		2	3			1
22-8	Coto-feanca.	Huttes servant d'abri la nuit.	1	1	2	8	16	6		1	1
—	—	Etable.	21	2	1	10	31	24	3	2	3
31-8	Rosetti-Letea. Sfiștofca.	Chambres et corridors.	8	11	17	4	3		1		
1-9	Mille 23.	Chambres et corridors.	2	16	16	3	6	3			

RÉPARTITION DES DOUBLES RÉACTIONS

Lieu de capture	Partie du bâtiment	Réaction positive en présence d'antisérums de			
		homme	porc	bœuf	cheval
Socola	Pavillons.	+		+	
Cotofeanca	Huttes servant d'abri la nuit.	+	+		
—	Étable.	+			+
—	—			+	+
—	—			+	+

(+) Établie par le docteur Weyer.

Les identifications données dans ces tableaux ont été établies par le docteur Weyer qui y joint les observations suivantes :

OBSERVATIONS CONCERNANT LES TABLEAUX D'EXAMENS HÉMATOLOGIQUES

Seules ont été utilisées les réactions tout à fait nettes. Pour quelques-unes des réactions, les protocoles originaux détaillés portaient l'indication s. = faible (schwach) ou s. s. = très faible (sehr schwach). Ces cas, qu'on a considérés comme positifs dans les tableaux, sont rares.

On a obtenu, avec les antisérums de chien et de mouton, des réactions qui n'étaient pas tout à fait nettes. Il faut donc n'utiliser qu'avec quelque précaution les réactions qui, dans les tableaux, sont qualifiées de « positives ».

Les échantillons de la rubrique « Quantité de sang insuffisante » comprenaient soit une quantité trop faible de sang, soit du sang parvenu à un stade de la digestion trop avancé, et qui, dissous dans l'eau distillée, ne la troublait donc plus suffisamment.

Quant aux échantillons de sang qui n'ont donné aucune réaction, ce sont des antisérums humain, de porc, de bœuf, de cheval (antisérums liquides de l'Office d'Hygiène du Reich, Berlin-Dahlem) et aussi, dans la plupart des cas, des antisérums de mouton (antisérum sec de l'Istituto Sieroterapico Milanese) qu'on a employés. La quantité de sang ayant été, dans ce cas, suffisante, il est à présumer que les anophèles s'étaient alimentés sur des animaux d'autres espèces. Il s'agit peut-être ici, comme dans le delta de l'Ebre, d'insectes qui se sont alimentés en grande partie sur des oiseaux. Il est très probable que le sang dont il n'a pas été possible de déterminer la provenance, était du sang d'oiseau. D'ailleurs, l'un de nous (Zotta) n'a-t-il pas déjà établi, il y a plusieurs années, après examens d'estomacs de moustiques au microscope, qu'un assez grand nombre de ces insectes, vivant dans le delta, se nourrissaient de sang d'oiseaux. Il n'est malheureusement pas possible, avec les méthodes utilisées jusqu'à présent, d'établir avec certitude la proportion des moustiques s'alimentant de cette façon.

Pour tous les échantillons de sang, on a utilisé au moins les antisérums humain, de porc, de bœuf, de cheval et de chien. Les antisérums qui ne donnaient pas de précipitation servaient également au contrôle.

Quant à nous, il faut encore remarquer que si l'utilisation des frottis provenant de Socola a particulièrement bien réussi, c'est parce que les insectes, capturés de bon matin, ont pu être préparés immédiatement. Les résultats relativement mauvais obtenus à Rosetti, à Letea, à Sfiştofca d'une part, et au Mille 23, d'autre part, sont probablement dus à ce que les moustiques n'ont été préparés que vers 4 heures, mais peut-être aussi au fait que, la journée ayant été très humide, il n'y a pas eu immédiatement une dessiccation suffisante. A Socola, en outre, les moustiques avaient séjourné dans des pièces élevées relativement fraîches, et la capture, ainsi que la préparation, avaient eu lieu

par une journée fraîche, tandis qu'à Cotofeanca, par exemple, la capture et la préparation ont été opérées pendant une journée très chaude où les moustiques, capturés dans l'étable, n'ont même pu être préparés qu'après le repas de midi. Il semble donc qu'en règle générale, dans les pays chauds, on doive capturer les moustiques destinés aux identifications hématologiques et, très tôt le matin autant que possible, procéder dès la matinée à la préparation des frottis et à la dessiccation, précaution que le climat en Allemagne ne semble pas exiger, en général.

Il ressort en premier lieu des tableaux ci-dessus qu'à Cotofeanca, où la population dort habituellement devant les maisons, les moustiques fraîchement gorgés qu'on a capturés dans les habitations contenaient presque exclusivement du sang d'animaux. Ce fait ne saurait étonner personne, car il s'agissait justement de moustiques qui avaient pénétré dans les habitations, etc., etc., après avoir trouvé ailleurs leur nourriture; mais il nous apprend qu'on doit toujours s'attendre à trouver, dans les habitations, un assez grand nombre de moustiques gorgés de sang de bétail, surtout lorsque des bestiaux, des porcs, des chiens, passent la nuit en plein air dans le voisinage. Les personnes et les animaux étant, dans ce cas, également exposés, nous constatons que c'est en général le bétail qui, de beaucoup, est le plus recherché par les moustiques. Il en est même ainsi pour la hutte ouverte d'un côté qui sert d'abri pendant la nuit.

Dans le delta du Danube, par contre, nous avons obtenu, pour beaucoup plus de la moitié des moustiques capturés dans les habitations et pouvant encore servir aux expériences, des réactions positives en présence de sérum humain. En outre, dans ce cas également, il était entré dans les habitations un certain nombre de moustiques qui avaient déjà sucé du sang au dehors. C'est surtout parmi les anophèles trouvés dans le corridor qu'un grand nombre devaient avoir pénétré dans la maison non pour s'alimenter, mais pour s'y abriter; cependant, on a constaté qu'un nombre assez élevé d'anophèles avaient réussi à pénétrer dans les pièces fermées et à y sucer du sang humain. Il ne saurait donc être question d'une zoophilie absolue des moustiques du delta.

Les moustiques capturés à Socola contenaient presque exclusivement du sang humain.

Comme c'est précisément à Socola qu'on trouve l'*A. m. maculipennis*, il est évident que ce moustique n'est pas en soi absolument « misanthrope ». Certes, aucune étable ne se trouvait

sur le terrain de l'hôpital lui-même, mais il y a des maisons abritant du bétail assez près de l'une des pièces d'eau où les anophèles déposent leurs œufs, entre cette dernière et les pavillons de l'asile d'aliénés où ont été capturés les moustiques. Les porcheries de l'hôpital sont situées beaucoup plus près de l'autre gîte à larves. Ce n'est donc manifestement que lorsque les étables et les locaux d'habitation comportent une disposition particulière que cette variété se trouve suffisamment attirée par le bétail.

En ce qui concerne les chiffres globaux relatifs aux différents lieux de captures, nous renvoyons le lecteur aux observations faites par Zotta, lequel indiquait, dans son rapport de février 1927 à la Société des Nations, les chiffres suivants :

	Maculipennis	*Pseudopictus*	*Mansonia*
Saint-Georges.			
Poulailler	Innombrables.	Rares.	Nombreux.
Abri avec vaches et poules	700	56	20
Mille 23.			
Habitation	2	80	60
Poulailler	Innombrables.	50	73
Gorgova.			
Habitation	0	Très nombreux.	»
Poulailler	Très nombreux.	Nombreux.	Rares.
Magasin	Env. 1.000	Env. 1.000	Pas rares.
Tirla Comachi.			
Habitation	10	38	2
Poulailler	200	3	16
Ecurie	157	300	28
Tirla Maria Munteanu.			
Ecurie (vaches)	Innombrables.	Rares.	Pas rares.
Habitation	6	87	17
Sulina,			
Ecurie	4-5.000	230	180
Sfistofca.			
Ecurie	650	15	50
Periprava.			
Ecurie (chevaux) (capture d'un seul filet).	260	200	180

Il ressort de cet aperçu, des plus intéressants, que le nombre d'*A. pseudopictus* trouvés dans les quatre maisons dépasse toujours de beaucoup celui d'*A. maculipennis*, tandis que le contraire se produit dans les poulaillers où les *maculipennis* sont toujours beaucoup plus nombreux. Quant aux étables à chevaux, vaches, etc., l'une ou l'autre de ces conditions peut s'observer.

L'hypothèse selon laquelle l'*A. maculipennis* serait moins zoophile que l'*A. pseudopictus* dans une région du delta, et plus dans d'autres du même delta, est probablement beaucoup moins

vraisemblable que celle d'après laquelle la distribution dépendrait en grande partie du microclimat, lequel offre en général un déficit de saturation minimum dans les poulaillers et maximum dans les habitations.

Nous n'avons rien constaté de précis en ce qui concerne le moment où piquent les moustiques. Bien qu'il y eût devant notre habitation de Gurbănesti deux étangs expérimentaux de la station antipaludique dont l'un fourmillait de larves d'anophèles, nous n'avons observé aucune attaque d'*A. maculipennis* pendant que nous étions assis, à cinq ou six, sur l'escalier extérieur de la maison.

Par contre, malgré les treillis métalliques, il y avait dans la maison une quantité d'anophèles, mais la raison, très compréhensible, en était que le bâtiment, en sus de notre dortoir, contenait aussi des locaux de laboratoire où se trouvaient des cultures d'où s'évadaient des moustiques, et où, chaque jour, plusieurs anophèles nous échappaient au moment où nous procédions à l'isolement, surtout pendant les journées chaudes. L'anophèle est en effet beaucoup plus mobile par la chaleur que lorsque la température est basse. Pendant les journées fraîches qui ont succédé à un violent orage à Socola, la température ne dépassant pas 16° à l'extérieur et étant également basse dans la chambre, pas un seul moustique ne nous a échappé.

Une de ces femelles nous a piqués une fois, tard le soir, au moment où nous éteignions la lumière. Ces insectes ont aussi donné lieu à deux autres observations : nous avons vu, un soir, 20 à 25 anophèles femelles qui, posées autour d'une lampe au plafond, formaient exactement un cercle d'environ 30 centimètres de rayon autour de l'ampoule, sous le plafond blanchi. Ce cercle représentait-il l'emplacement où l'effet attractif de la lumière atteignait la limite d'une intensité lumineuse trop forte pour les insectes ? Ou bien ceux-ci, attirés par la chaleur, se trouvaient-ils fixés à la limite déterminée par l'intensité lumineuse ou par une chaleur devenant trop forte ? Le phénomène était en tout cas extrêmement net et frappant. Peut-être constitue-t-il un indice utile pour les expériences futures sur les réactions des anophèles.

En second lieu, nous avons constaté de nouveau un fait bien connu à la suite d'observations dans d'autres pays impaludés. Une partie des anophèles qui se trouvent dans la maison en sortent durant les premières heures du matin et, lorsque les fenêtres sont grillagées, on les voit voleter sur le treillis métal-

lique ou s'y poser. Or, à Gurbănesti, fait curieux, ils ne voletaient ou ne se posaient que sur la partie inférieure du treillis. En essayant d'expliquer ce phénomène bizarre, on pourrait concevoir que, pendant les heures matinales, l'air extérieur étant plus frais que celui de la chambre, ce dernier sort par la partie supérieure de la fenêtre, tandis que l'air frais et humide du dehors pénètre par le bas, à travers le treillis métallique. On est donc tenté d'expliquer ce comportement frappant des moustiques par un tropisme qu'il convient tout d'abord de vérifier et que le plus simple serait de considérer comme étant dû soit à la préférence déjà connue des anophèles pour les abris frais et humides, soit à une réaction à l'égard d'un de ces facteurs ou encore, tout simplement, à l'effet du courant d'air lui-même. L'hypothèse la plus simple est sans doute qu'à un stade physiologique déterminé, les moustiques vont vers le courant d'air frais et humide qui doit les mener vers un gîte approprié.

L'action d'ensemble des diverses espèces de moustiques, dans le delta, est très prononcée. Ce sont évidemment les moustiques que le bétail fuit, le soir, lorsqu'il revient au village après avoir passé la journée à l'air dans les prés ou dans les roseaux, sur le « plaur ». C'est aussi à cause des moustiques que, sur la Sulina, dans la localité du même nom, le bétail recherche un emplacement dégagé, près de la rivière, pour y passer la nuit.

Dans le delta, les pêcheurs indigènes eux-mêmes craignent beaucoup les attaques des moustiques. En général, personne n'y passe la nuit sans être muni d'une moustiquaire suffisamment protectrice, et il est de règle de ne jamais séjourner dans la zone marécageuse sans se protéger. Il est arrivé assez fréquemment que les piqûres faites à des personnes qui étaient restées dehors sans moustiquaire aient eu des suites graves. C'est ainsi qu'en 1912, l'un d'entre nous, s'étant égaré parmi les canaux pratiqués dans la brousse de roseaux, aux environs de Ghiolul Fortuna, et ayant dû passer la nuit qui était belle et étoilée dans un bateau, sans moustiquaire, fut ramené le lendemain à Sulina sans connaissance, le visage, les pieds et les mains entièrement enflés par suite d'innombrables piqûres de moustiques. Les pêcheurs que l'on veut obliger à passer une nuit au dehors sans moustiquaire sont saisis d'une véritable frayeur et ils n'y consentiraient pas même au prix d'une très forte récompense.

Le paisible bétail, lui-même, est parfois saisi d'une terreur panique due aux souffrances que lui causent les piqûres de moustiques. En général, on le laisse errer librement dans le

delta sur les dunes, souvent loin des villages, jusqu'au mois de juillet, époque où les piqûres de moustiques deviennent plus sensibles, puis à partir de la fin de septembre jusqu'au début des fortes gelées. En juillet et en août, pendant les années où les moustiques pullulent, on ramène, le soir, les troupeaux au village où, chaque nuit, on allume un grand feu de fumier, et c'est autour de ce feu, dans l'air enfumé, que bœufs et chevaux passent la nuit. Parfois, lorsque souffle le vent d'est, les animaux peuvent rester la nuit sur les dunes, dans la zone dangereuse, mais si le vent tombe, ils rentrent d'eux-mêmes au village. L'un d'entre nous a assisté plusieurs fois, en pleine nuit, à l'arrivée impétueuse des troupeaux dans le village lorsque, aiguillonnés par les moustiques, ils revenaient traversant au galop les fossés et les jardins dont ils brisaient les clôtures de roseaux, pour se mettre en sûreté près du feu protecteur.

Il n'est pas étonnant que, devant un tel fléau, la population se protège des moustiques. C'est ainsi que, dans le delta, les gens dorment dans des pièces qu'ils cherchent à rendre inaccessibles aux moustiques autant que possible, en fermant les fenêtres. Certes, il arrive souvent qu'on passe la nuit en plein air, mais on se protège alors au moyen d'une moustiquaire primitive. Le danger des piqûres d'anophèles est donc essentiellement moindre ici que dans d'autres parties du pays.

VIII. — *ÉTAT DU PALUDISME*

Les centres d'hygiène modèles organisés à l'instigation du professeur Ciuca ont procédé à des recherches précises sur l'état du paludisme dans la région de Jassy, à Tomesti, à Poeni et à Prisacani.

Un tableau concernant ces localités, que nos collègues nous ont communiqué sur place, donne les indices malariques suivants pour la période allant de 1931 à juillet 1933 inclus. Ces chiffres dénotent en premier lieu que 1932 a été une année malarique. La proportion très forte de tierce, au printemps de 1933, est naturellement, elle aussi, la conséquence de l'impaludation pendant l'été de 1932. On remarque par ailleurs que Poeni, situé à une grande altitude, se distingue par une proportion très faible de cas.

PALUDISME

	Population	1931		1932		1933	
		Nombre total	°/₀₀	Nombre total	°/₀₀	Nombre total	°/₀₀
Tomesti	740	19	25,7	79	106,7	44	59,4
Ossoi	1.606	78	47	105	67	152	94,6
Prisacani	2.708	36	11,8	167	61,8	141	52,1
Costuleni	1.272	39	30,6	216	169	192	151
Poeni	788	9	11,4	31	39,3	36	45,7

Il est très frappant que, d'après les indications fournies, le village de Criștești, particulièrement infesté de moustiques, paraît-il, n'est que faiblement impaludé; la raison en serait qu'il y vit de nombreux cheminots et que la population de cette station de chemin de fer et, particulièrement, les familles de cheminots, seraient beaucoup plus favorablement placées, en ce qui concerne l'approvisionnement en quinine, que les autres villages; cette explication ne nous a pas semblé suffisante. C'est précisément aux environs de Criștești que se trouvent d'immenses étendues de roseaux et de vastes étangs et marécages. Nous avons donc conçu l'hypothèse que, lorsqu'un village se trouve dans une région sèche, c'est particulièrement l'agglomération qui est infestée de moustiques, ceux-ci se groupant autour de la population. Par contre, dans les régions où existent de vastes étendues de roseaux, de marais, etc., offrant des emplacements humides et ombragés suffisamment abondants, les moustiques restent peut-être en beaucoup plus grand nombre dans ces gîtes; il arrive alors qu'une nuit les moustiques du village viennent se mêler à de gros essaims de moustiques de l'extérieur, et il est dès lors beaucoup moins probable que ces mêmes moustiques retourneront au village. Ce mélange des deux catégories de moustiques doit être en tout cas de nature à abaisser sensiblement l'index sporozoïtique des moustiques du village, et pourrait ainsi constituer un facteur défavorable à l'épidémie paludique.

On pourrait aussi concevoir, naturellement, qu'en raison de la plaie que constitue la pullulation de moustiques provenant des roseaux et des marais, la population se retire, également, la nuit, dans les habitations et se protège autant que possible contre les moustiques, comme la population du delta. Ce point n'a pas retenu notre attention au début de nos recherches. L'importance plus ou moins grande du cheptel ne semble nullement être la cause des différences constatées dans l'intensité du paludisme.

Le village d'Hodora est situé à l'extérieur des stations modèles.

On y détermine l'état du paludisme, non seulement sur la base d'examens hématologiques, mais aussi d'après l'examen de la rate. On a été frappé d'y constater un indice splénique très élevé et, chez certains individus, une très forte splénomégalie. Or, les moustiques y sont souvent peu nombreux.

Le paludisme sévit moins gravement dans les localités de haute altitude qui entourent Poeni que dans les villages du Pruth. Les moustiques abondent également dans la région de Poeni, mais pas autant qu'à Prisacani et encore moins qu'à Cristești. On constate donc, en premier lieu, qu'il ne s'agit pas d'un simple parallélisme avec l'abondance de la faune anophélienne, car c'est Hodora qui, autrement, serait la localité la plus saine. La direction des stations modèles devant nous adresser prochainement des études concernant l'abondance du bétail et son rapport avec l'état du paludisme, nous n'anticiperons pas ici et nous nous bornerons à nous demander si l'on peut établir un rapport entre l'état du paludisme et les races du *maculipennis*. Un tel rapport semble certes possible dans cette région, en ce sens que c'est dans la zone où l'*A. atroparvus* est le plus répandu, proportionnellement, et peut-être aussi absolument, que l'impaludation est la plus grave. Dans les localités du Pruth, où semble sévir une impaludation moyenne, c'est l'*A. messeæ* qui domine presque exclusivement; enfin, dans la région de Socola et même dans celle de Poeni où l'impaludation est relativement faible, on ne trouve presque uniquement que l'*A. maculipennis* (race type). Seul, nous l'avons vu, Cristești fait exception à cet égard; il faut observer aussi que le dénombrement des cas de paludisme à Hodora, à Socola et dans les autres localités n'est pas encore strictement comparable, et, finalement, que d'autres facteurs encore pourraient fournir une explication à cet égard.

En ce qui concerne la région de Gurbănesti, on nous a déclaré qu'il n'y avait pas, entre les diverses localités, de différence sensible quant au degré d'impaludation. La proportion d'*A. atroparvus* parmi la faune anophélienne varie beaucoup. Les constatations relatives au paludisme reposent, dans cette région, sur des examens répétés deux fois chaque année par les médecins, avec le concours d'étudiants. Les méthodes employées sont la goutte épaisse et les frottis. Les renseignements provenant d'un de ces villages nous apprennent qu'entre deux examens, environ 33 % des habitants viennent à la visite médicale en raison

du paludisme, mais que pour 7,2 % seulement le nouvel examen du sang fournit un résultat positif; ces indications donnent absolument l'impression d'une population si complètement impaludée que les personnes âgées ne présentent toutes, au stade latent secondaire, que des parasites trop rares pour donner une réaction positive, tout en ayant une tendance à réagir, par des accès de paludisme, à toute occasion débilitante.

A vrai dire, cette impression paraît infirmée par l'indice probable lui-même qui, d'après les chiffres de la station de Gurbănesti, ne dépasserait pas, sur 8250 personnes, 25 %. Or, on est immédiatement frappé par le fait que, dans la région de Gurbănesti, l'incidence maximum du paludisme ne se rencontre pas avant la période d'âge de cinq à dix ans; mais on nous a expliqué que, tandis que les enfants plus âgés dormaient déjà avec leurs parents au dehors, les tout petits restaient la nuit dans les chambres, même en été. En moyenne, les enfants se trouveraient donc moins exposés à l'infection pendant les cinq premières années de leur vie que pendant les cinq années suivantes, et l'on aurait ainsi une explication plausible du fait qu'on ne constate pas d'indices paludiques maxima avant la deuxième période de vie de cinq ans.

Etant donné que les conditions climatiques de cette région diffèrent assez fortement, elles aussi, de celles de la Moldavie, autour de Jassy, une comparaison avec ces localités ne semble pas possible, mais on peut en établir une avec les villages du Danube situés dans le voisinage immédiat, et l'on constate alors que, malgré la prédominance presque absolue de l'*A. messeæ* dans ces villages, le paludisme ne semble pas y être moins fréquent que dans ceux qui sont éloignés du Danube. Si l'on voulait expliquer, pour ces derniers, la fréquence du paludisme par la présence de l'*A. atroparvus*, il faudrait supposer que l'absence de cette variété dans les villages danubiens est compensée par l'importance numérique absolue beaucoup plus grande de la faune anophélienne. L'un d'entre nous s'occupe actuellement de recueillir, pour le département de Vlasca, des données numériques qui sont en cours d'élaboration. Nous reproduisons ci-après, à titre de preuve, les chiffres de l'endémie de 1931, d'après les données que le médecin-chef du département a mises à notre disposition. Il a été déclaré en 1931, d'après les diagnostics cliniques et, en partie, hématologiques, 10.261 cas de paludisme dont voici la répartition mensuelle :

Janvier	12 cas
Février	5 —
Mars	31 —
Avril	51 —
Mai	965 —
Juin	1.504 —
Juillet	1.871 —
Août	2.875 —
Septembre	1.726 —
Octobre	972 —
Novembre	550 —
Décembre	47 —

Les formules du paludisme étaient les suivantes :

Pl. vivax	59,2 %	des cas positifs.
Pl. malariæ	6,8 —	—
Pl. immaculatum	31,6 —	—
Formes indéterminées	2,4 —	—

Il est intéressant de constater que les cas de tierce maligne représentent environ un tiers de l'ensemble des formes; d'après les recherches de l'un d'entre nous (Zotta), qui seront publiées prochainement, ce pourcentage s'applique également aux autres parties du royaume.

Voici, d'après les recherches effectuées par la même personne, l'indice splénique de 2004 enfants qui ont été examinés, en 1932, dans la zone d'inondation du Danube et de la vallée de Cîlnistea :

Slobozia	18- 8-32	13,5 %	(141)
Pueni	27-10	56,3	(227)
Meletie	27-10	73	(208)
Daia	27-10	25	(240)
Draganesti	28-10	± 50	(200)
Naipu	28-10	53	(241)
Ghimpati	28-10	32	(186)
Arsache	18-8	11,2	(259)
Pietroșani	18-8	16,2	(302)
			(2.004)

D'après les observations du même auteur, la vallée de Cîlnistea et la zone d'inondation du Danube présentent la différence suivante : dans cette dernière zone, un anophélisme extrêmement développé entretient une endémie paludique très dense, mais assez bénigne, tandis que, dans la région de Cîlnistea, une faune anophélienne sensiblement moins nombreuse entretient une impaludation aussi dense, mais beaucoup plus virulente. Il est possible que l'œcologie et la répartition des diverses races d'anophèles puissent expliquer cette différence.

En raison de la lutte antipaludique très active qui se poursuit à Macin et à Isaccea (fig. 5), ces villages ne constituent pas un terrain favorable pour les études portant sur le rapport entre les diverses races de moustiques et le paludisme. Pourquoi, cependant, le delta lui-même, avec ses innombrables *messeæ* derrière la rive du Danube, au sud de Bucarest et les localités des environs de Gurbănesti et de Jassy, où pullule cette espèce, est-il manifestement beaucoup moins impaludé que les autres régions ? L'étude des races ne peut, à elle seule, en donner une explication suffisante. Il semble que, depuis quelque temps, de nombreuses localités du delta n'aient guère signalé de cas de paludisme et d'autres quelques-uns seulement. Mais tous les cas sont-ils signalés, surtout parmi les enfants ? C'est une autre question. On nous a dit que ce serait souvent dès la première année de séjour dans le delta que les personnes venues d'ailleurs y contractent le paludisme; ce fait semble indiquer que le réservoir de virus et l'incidence de l'infection ne peuvent donc être aussi bas qu'on veut bien le dire. Il y aurait, à cet égard, concordance avec le fait que l'indice probable, calculé d'après les chiffres des travaux de Zotta en 1932, atteint 29,5 %. L'indice correspondant, tiré de la même source, atteint, il est vrai, 100 % pour les villages du cours du Danube, et pour ceux du Pruth, 64,1 %. Il subsiste même alors une énorme différence, en ce sens que le delta semble beaucoup plus sain que les autres régions.

Assurément, le delta du Danube est très riche en bétail. D'après les recherches faites précédemment par l'un de nous, on y trouve quatre bovidés par tête d'habitant, soit une proportion beaucoup plus forte que dans les villages situés plus loin sur le Pruth. C'est très probablement ce qui explique, en partie, la différence qui existe, au point de vue de l'impaludation, entre le delta, où l'élevage prédomine de beaucoup, et les régions de culture.

Pour le village de Prisacani, sur le Pruth (2708 habitants), nous avons reçu, par exemple, l'indication suivante :

Chevaux	401
Bovidés	1.139
Moutons	2.248
Porcs	657
Total	4.445

On trouve donc ici une proportion de bovidés atteignant 0,42 par tête d'habitant, soit environ le dixième de la proportion cor-

respondante du delta. Ce n'est que le chiffre total du bétail (on ne connaît pas ce chiffre pour le delta) qui atteint environ 1,6 par habitant. Nous pouvons affirmer que ce chiffre ne représente pas plus d'un tiers de celui du delta. De plus, le petit bétail, avec ses 3000 têtes, représente la très grande majorité de ce troupeau. Or, il semble que les conditions étant les mêmes par ailleurs, le petit bétail attire moins les moustiques que le gros bétail.

La déviation trophique sur le bétail est en tout en cas beaucoup plus forte dans le delta et l'on peut admettre, pour peu que les conditions dans le reste du pays soient analogues à celles de Priscani, que l'infectiosité du paludisme dans le delta, du fait de cette seule différence, est environ de quatre à huit fois plus faible que dans les localités comme Prisacani (pour les motifs indiqués par Sella-Martini) (1).

On trouve une explication encore plus plausible de la faible incidence du paludisme dans le delta dans le fait que la population s'y protège contre les anophèles en dormant dans les habitations ou en utilisant des moustiquaires.

Dans le delta, en outre, l'alimentation de la population est excellente. La pêche, très productive, fournit des aliments très nutritifs à des prix minimes, et la situation économique favorable qui en résulte va de pair avec un bon état de nutrition dont témoigne tout particulièrement la mine florissante des enfants. *Alimentation satisfaisante, abondance de bétail, mesures de protection contre les anophèles, telles sont, à notre avis, les trois raisons essentielles pour lesquelles le paludisme n'est que faiblement répandu dans le delta du Danube.*

Nous n'avons que peu d'indications sur le paludisme dans la région de Constantza (fig. 6). Le fait que les localités d'Eforia et de Carmen Silva sont considérées comme indemnes de paludisme ne signifie pas grand'chose; nous avons, en effet, lieu d'admettre que la maladie, contractée en été, ne se déclare le plus souvent qu'au printemps suivant, dans une tout autre localité, et qu'une grande partie du potentiel d'infection créé au cours d'un été est ainsi réévacué chaque année. Le village de Tekir Ghiol est, paraît-il, gravement impaludé, ce qu'on peut attribuer à la prédominance en ce lieu de la variété *atroparvus*.

Le village d'Urluchioi aurait été entièrement anéanti par les fièvres. Il faudrait donc admettre ici une impaludation d'une

(1) MARTINI : « Verbreitung von Krankheiten durch Insekten. » (*Weichardst Ergebnisse der Hygiene*, t. 7, p. 320.)

intensité tout autre que dans les autres régions. Il ne saurait absolument pas être question, ailleurs, d'une population complètement décimée par le paludisme; au contraire, l'accroissement de la population dû à la prolifération autochtone est véritablement étonnant. Les races d'anophèles peuvent-elles en l'espèce fournir une explication satisfaisante ? Nous pouvons répondre affirmativement à cette question après avoir constaté que l'*A. elutus*, l'un des agents de transmission du paludisme les plus dangereux en Europe, se rencontre en grand nombre à Urluchioi.

L'hypothèse relative au rôle important joué par l'*A. elutus* a été vivement discutée par Hackett et Missiroli, avec l'un de nous, il y a quelques années, à propos de l'état du paludisme à Gorino et à Ferrare. Il semble que, par suite de la diminution de la teneur en sel des eaux de l'Italie septentrionale et centrale, ce moustique ait été en grande partie refoulé par l'*A. messeæ*. C'est ainsi que les susnommés s'expliquaient la disparition du paludisme à Massarrosa après l'installation des écluses maritimes et la diminution de la teneur en sel des eaux des marécages. Les conditions qui prévalent dans la campagne romaine et dans les régions situées immédiatement au sud peuvent évidemment, elles aussi, se concilier avec la théorie du paludisme grave causé par l'*A. elutus*, et, comme on l'a vu, la présente étude contient également, pour la région de la mer Noire, certains indices qui permettent d'attendre des résultats analogues d'une enquête épidémiologique plus étendue.

***

Il ne semble pas improbable, en tout cas, qu'une étude plus approfondie, qui tiendrait compte de la densité des anophèles dans les divers villages déterminés au moyen d'abondantes captures, ainsi que la déviation trophique des anophèles sur le bétail, sur la base d'une statistique plus exacte du cheptel, permettrait de constater qu'en Roumanie également, c'est l'*A. elutus* qui est l'agent de propagation paludique de beaucoup le plus dangereux, suivi de près par l'*A. atroparvus*, puis par l'*A. messeæ*, tandis que l'*A. maculipennis* est l'espèce la moins dangereuse. Il ressort néanmoins de nos observations que, dans des conditions particulièrement défavorables, c'est-à-dire en l'absence de protection contre les piqûres de moustiques, toute une population peut en arriver à être atteinte de tierce bénigne, même

dans une zone où vit seule la variété *messeæ*, et qu'il peut même se présenter un certain nombre de cas de tierce maligne. Mais nous n'avons pas constaté non plus, en Roumanie, de cas de tierce maligne graves pouvant décimer une population dans les régions où se rencontrent l'*atroparvus*, le *messeæ* et le *maculipennis*.

*
**

L'étude de Zotta (1932), citée à plusieurs reprises, signale comme un fait frappant que le delta du Danube n'aurait pas toujours été aussi réfractaire au paludisme qu'actuellement, et qu'une grave épidémie y avait sévi immédiatement après la grande guerre, épidémie qui aurait été la continuation d'une vague de paludisme venue du sud-ouest. Or, il est sans doute permis de supposer que les conditions prévalant immédiatement après la guerre différaient totalement, sur un point, de celles qui existent aujourd'hui. Les armées ne se contentent pas d'être simplement nourries : elles consomment de grandes quantités d'aliments et surtout de viande. En outre, les armées des puissances centrales ne pouvaient rien attendre de leurs pays affamés, et ces centaines de milliers d'hommes vivaient sur le pays où les avait amenés la guerre et en consommaient certainement les troupeaux.

C'est ce qui est arrivé, tout d'abord, dans une grande partie de la Dobroudja; mais, plus tard, lorsque l'offensive contre la Valachie progressa jusque vers Galatz, les Roumains eux-mêmes enlevèrent tous les vivres de la région menacée, afin de ne pas les laisser tomber aux mains de l'ennemi. L'armée roumaine, elle aussi, doit avoir consommé une grande partie du bétail. Nous ne possédons, certes, aucune indication certaine à cet égard, mais la présence de corps d'armée roumains dans le nord-est de la Dobroudja, ainsi que le retrait du bétail, doivent avoir eu pour conséquence une forte diminution du cheptel du delta, à cette époque, et l'on peut sans doute attribuer cette vague de paludisme, immédiatement après la guerre, aux mêmes causes que la grande vague de paludisme qui couvrit la Russie en 1922-23, à savoir à l'absence d'une quantité suffisante de bétail pouvant servir de facteur de déviation pour les moustiques.

D'une manière générale, le paludisme en Roumanie ne présente donc nulle part, à notre avis, de particularités qui ne puissent être expliquées par les facteurs malariogènes déjà

connus. Il semble, au contraire, que chacun des caractères spéciaux observés par nous puisse s'expliquer le plus naturellement par des principes établis depuis longtemps. La vue rapide et l'idée d'ensemble que l'on peut se faire de la situation d'un pays en six semaines, en ce qui concerne le paludisme, les moustiques et les rapports qui peuvent exister entre ces deux facteurs, ne peuvent naturellement aboutir à des résultats absolument certains sur aucun point. Comme nous l'avons déjà indiqué ci-dessus (p. 71), seule une série d'enquêtes particulières approfondies permettrait de constater si les idées exposées ici se justifient partout ou dans quelle mesure elles sont fondées.

Pour comprendre les climogrammes ci-dessous (tableaux I et II), établis d'après les indications et les dessins d'auteurs roumains, il convient de noter, dans le système des coordonnées, que l'ordonnée correspond à l'état hygrométrique de l'air, et la progression de gauche à droite, à l'accroissement de la température. Chaque point de la surface en question représente donc une combinaison déterminée de la température et de l'humidité de l'air. Les chiffres des douze mois ont alors été inscrits aux points qui correspondaient à leur température et à leur humidité moyennes, et les points de mois voisins ont été reliés entre eux par des lignes.

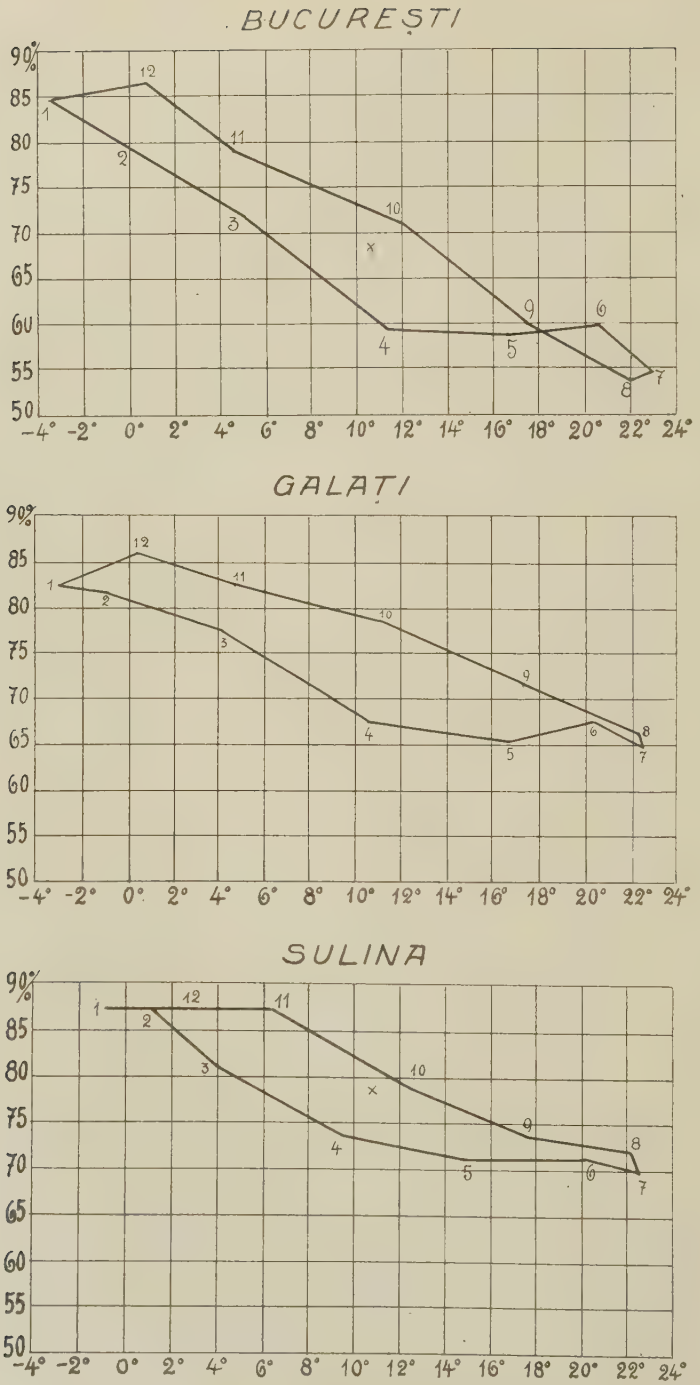
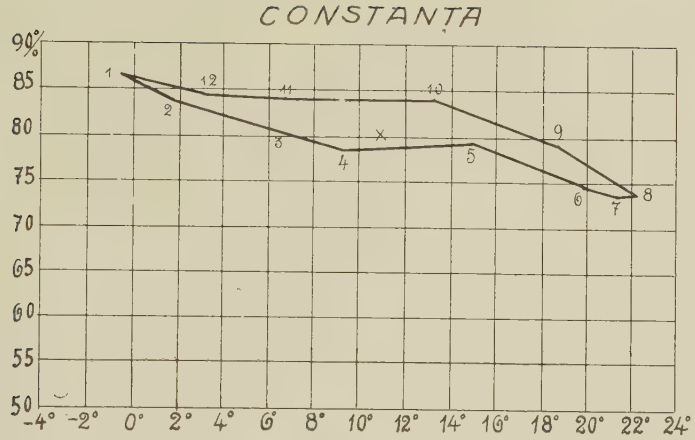
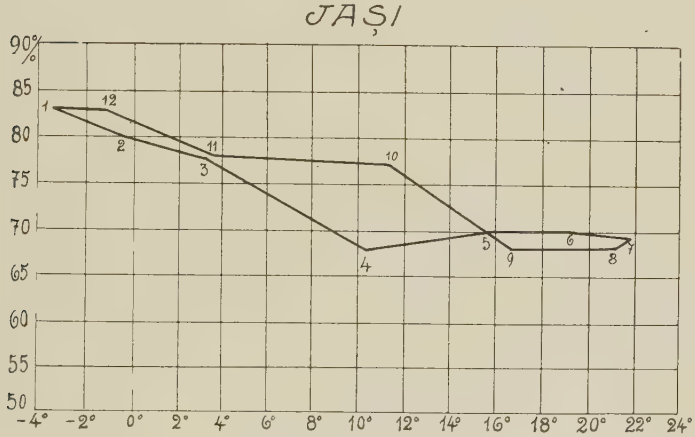

BUCUREȘTI
90%
85
80
75
70
65
60
55
50
-4° -2° 0° 2° 4° 6° 8° 10° 12° 14° 16° 18° 20° 22° 24°
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
GALAȚI
90%
85
80
75
70
65
60
55
50
-4° -2° 0° 2° 4° 6° 8° 10° 12° 14° 16° 18° 20° 22° 24°
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
SULINA
90%
85
80
75
70
65
60
55
50
-4° -2° 0° 2° 4° 6° 8° 10° 12° 14° 16° 18° 20° 22° 24°
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

TABLEAU I.


CONSTANȚA
90%
85
80
75
70
65
60
55
50
-4° -2° 0° 2° 4° 6° 8° 10° 12° 14° 16° 18° 20° 22° 24°


JAȘI
90%
85
80
75
70
65
60
55
50
-4° -2° 0° 2° 4° 6° 8° 10° 12° 14° 16° 18° 20° 22° 24°

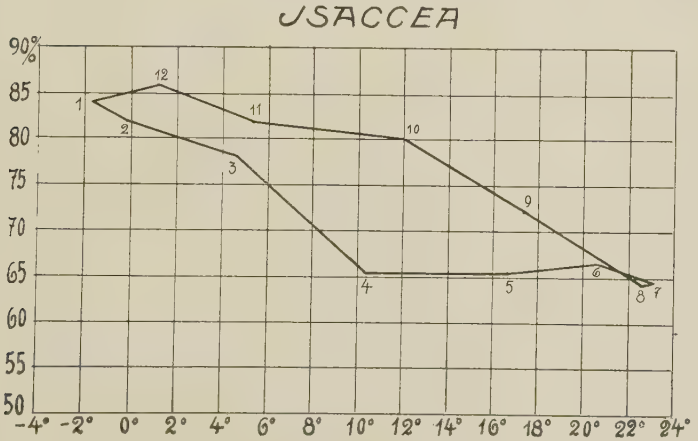
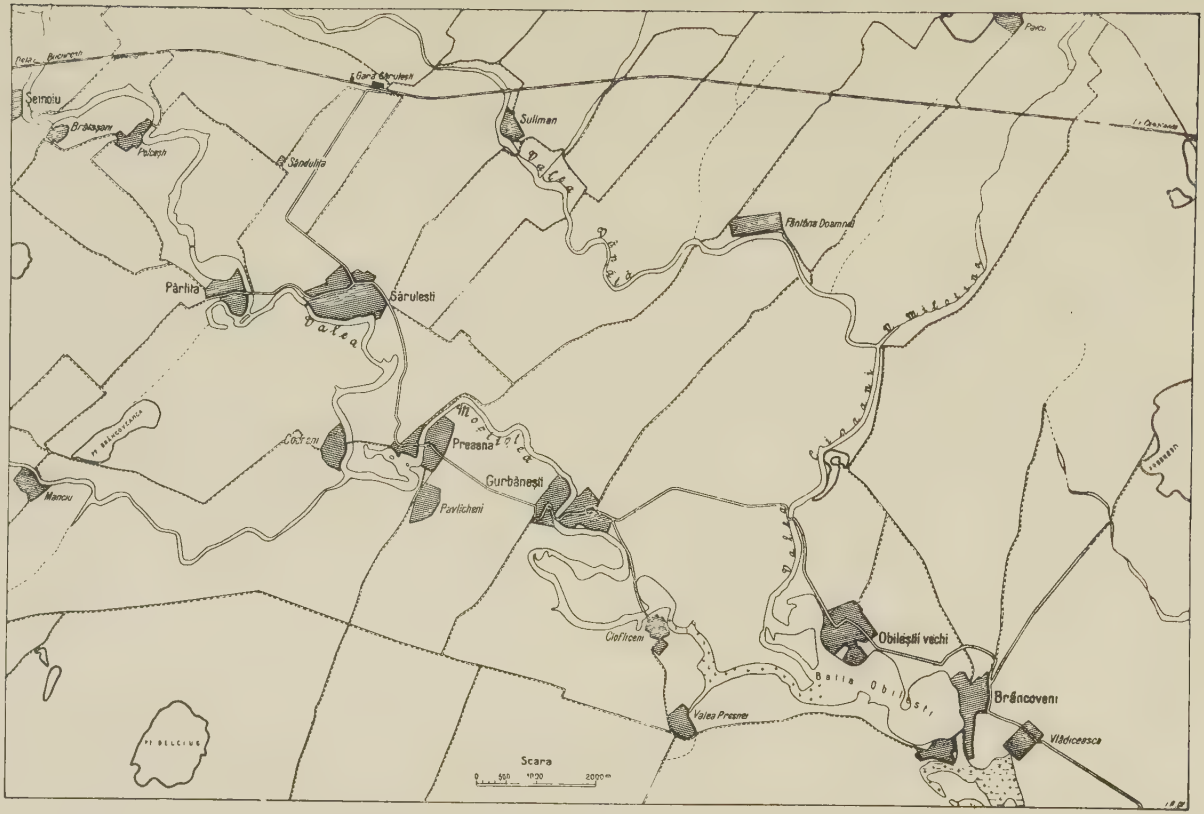

JSACCEA
90%
85
80
75
70
65
60
55
50
-4° -2° 0° 2° 4° 6° 8° 10° 12° 14° 16° 18° 20° 22° 24°

Tableau II.

25
48
48
Cernauți
Dunăre
Siret
Bâlțul
Iași
Chișinău
Prut
46
Galați
Brăila
Tulcea
Sulina
Ialomița
Argeșul
Dâmbovița
București
Ilfov
Bărăgan
Constanța
44
44
VLAȘCA
Dunăre
25

PLANCHE I.


Semoiu
Brătășani
Pârâul
Gara Sărulești
Sărulești
Sulman
Valea Dracii
Fântâna Doamnei
Pârâul Mostiștei
Pârâul Obilești
Pârâul Brâncoveni
Pârâul Vlădicești
Pârâul Presna
Pârâul Cofilceni
Pârâul Gurbănești
Pârâul Pavlicheni
Pârâul Costeni
Pârâul Mănicu
Pârâul Bălășoaia
Pârâul Valea Presnei
Pârâul Balta Obilești
Pârâul Vlădicești
Pârâul Brâncoveni
Pârâul Obilești vechi
Pârâul Cofilceni
Pârâul Gurbănești
Pârâul Presna
Pârâul Costeni
Pârâul Pavliche

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA BACILLÉMIE TUBERCULEUSE

(Premier mémoire)

(Etude comparative des différentes méthodes d'hémoculture)

par

M. NASTA, M. BLECHMANN et C. BACANU

(Travail de l'Institut de Sérologie de Bucarest.
Professeur I. Cantacuzène)

L'étude de la bacillémie tuberculeuse a été, dans ces dernières années, l'objet d'un grand nombre de recherches, suscitées en grande partie par les travaux de Löwenstein, dont les résultats, pour le moins imprévus, ont demandé une vérification et un rigoureux contrôle.

A l'occasion de ces travaux de contrôle, plusieurs problèmes se sont posés à l'esprit des expérimentateurs. En effet, il s'agissait non seulement de vérifier la fréquence de la bacillémie dans les affections tuberculeuses et non tuberculeuses les plus variées, mais aussi de préciser, dans les cas où cette bacillémie a pu être mise en évidence par l'hémoculture, quelle était la signification biologique de ces résultats, et notamment l'origine et la nature des différents bacilles atypiques, les uns cultivables en série, les autres seulement décelables à l'examen microscopique des cultures, que de nombreux auteurs, à la suite de Löwenstein, quoique avec une moindre fréquence, ont pu rencontrer au cours de leurs recherches.

Il nous a semblé qu'il serait intéressant, dans le but d'apporter un éclaircissement à ce problème, d'en aborder l'étude par voie

expérimentale sur l'animal, méthode qui permet de connaître au moins une des données du problème, c'est-à-dire la nature du germe infectant. Des tentatives de ce genre ont d'ailleurs été faites par d'autres auteurs sans que l'étude de la question ait été, jusqu'à ce jour, poussée trop loin.

Ainsi, Chin Kuk Choun a pratiqué 280 hémocultures sur 23 lapins inoculés avec des bacilles bovins, par voie intra-veineuse, et sous-cutanée, à la dose de 1/100e de milligramme pour la première, de 10 milligrammes pour la seconde. Les saignées étaient pratiquées tous les 8 jours, soit par ponction veineuse (veine marginale), soit par ponction du cœur. Sur 103 cultures pratiquées avec le sang veineux, il a obtenu 31 résultats positifs, soit 30,1 %, tandis que, sur 55 ensemencements du sang du cœur, il n'en a eu que 8, soit 14,5 % ; la même différence s'est maintenue sur un certain nombre d'autres cultures pratiquées selon une seconde méthode, soit 6,5% pour le sang du cœur, 21,2 % pour le sang veineux. Toutefois, ceci ne permet pas à l'auteur d'affirmer que la différence ne tiendrait qu'à l'origine différente du sang (centrale ou périphérique); en effet, sans éliminer cette possibilité, il attire l'attention sur le fait que la ponction cardiaque n'a été pratiquée que chez deux groupes de lapins qui avaient été inoculés avec un bacille de virulence moyenne; d'autre part, la ponction cardiaque n'a été pratiquée qu'entre le dixième et le quarantième jour après l'infection, tandis que la ponction veineuse a été pratiquée aussi bien avant qu'après cet intervalle.

La fréquence des résultats positifs a été proportionnelle à la virulence des germes plus qu'à la voie d'inoculation. Ainsi, il y a eu une proportion de résultats positifs de 14,6 % pour les lapins inoculés par voie sous-cutanée avec un bacille de virulence moyenne, de 35,1 % pour ceux inoculés par voie intra-veineuse avec le même bacille, de 46,7 % pour ceux inoculés par voie intra-veineuse avec un bacille très virulent, et de 75 % pour ceux inoculés par voie sous-cutanée avec le même bacille. Une réinfection avec des bacilles très virulents, pratiquée la sixième semaine chez des lapins déjà infectés avec un bacille de virulence moyenne, n'a pas été suivie d'une augmentation du nombre des résultats positifs.

Manteufel et Kottmann ont obtenu, chez le lapin tuberculeux, des résultats constamment positifs lors de l'ensemencement du sang du cœur après la mort de l'animal. Pour ce qui est des cultures pratiquées du vivant de l'animal, ils n'ont eu que

4 résultats positifs sur 34, dont 3 chez le même animal, à des intervalles de 25 jours.

Schapiro trouve la bacillémie constante chez les lapins inoculés avec de fortes doses de bacilles tuberculeux (de 1 à 10 milligrammes) de différentes origines (bovine et aviaire); il remarque cependant qu'avec les progrès de l'infection, l'apparition des cultures est retardée et leur abondance moindre, ce qui lui fait supposer qu'au fur et à mesure de l'évolution de l'infection, les bacilles trouvent dans l'organisme des conditions défavorables.

Tiedemann a pratiqué des hémocultures sur milieu de Löwenstein, chez 3 lapins inoculés par voie sous-cutanée, l'un avec 10 milligrammes de bacilles bovins, les deux autres avec la même dose de bacilles humains. Les hémocultures pratiquées tous les 7 jours, par ponction de la veine marginale, sont toutes restées stériles chez les lapins inoculés avec le bacille humain; chez celui inoculé avec le bacille bovin, la culture n'a été positive que le 71e jour.

Chez des lapins inoculés par voie intra-veineuse, avec 0,01 mmgr. de bacilles bovins ou humains, les hémocultures ont été positives les deux premiers jours; plus tard, les résultats ont été inconstants, et cela aussi bien chez les lapins inoculés avec des bacilles bovins et qui tous ont succombé à une tuberculose généralisée.

Chez des cobayes inoculés sous la peau avec 10 milligrammes de bacilles, les hémocultures ont été positives jusqu'à la 6e semaine, dans une proportion moyenne de 11 sur 41.

Ninni et Sanctis Monaldi ont pratiqué leurs cultures chez des cobayes inoculés dans le péritoine avec 0,01 mmgr. et 1 milligramme de bacilles humains, d'une souche de virulence moyenne (10 fois moindre que la bovine Vallée). Ils ont pu mettre en évidence la bacillémie à partir de 24 heures jusqu'au 10e jour; chez des cobayes préalablement vaccinés au B. C. G., la bacillémie s'épuisait après les premières 24 heures, lorsqu'il s'agissait de l'inoculation de 0,01 mmgr. de bacilles; avec la dose plus forte de 1 milligramme, elle persistait jusqu'au 10e jour, mais de beaucoup inférieure en importance, comme le laisse apprécier le nombre de colonies, et en plus d'un rythme d'élimination beaucoup plus régulier, tandis que chez les témoins il est complètement irrégulier.

Ninni et Gualdi ont trouvé la méthode de l'hémoculture trop peu sensible pour leur permettre d'étudier l'influence du blocage du système réticulo-endothélial sur l'évolution de la bacillémie;

aussi ont-ils été obligés de s'adresser à cette fin au procédé, plus sensible à leur avis, de l'inoculation au cobaye.

Saenz et Costil ont étudié la bacillémie déterminée chez la souris par inoculation de bacilles aviaires. Ils ont trouvé que la dose de 1 milligramme détermine une bacillémie permanente; très abondante, les premières heures après l'inoculation, elle diminue les jours suivants, pour augmenter ensuite à nouveau dans la phase terminale. Avec des doses de 0,1 et 0,01 mmgr., la bacillémie est précoce et s'arrête après quelques heures.

Weatherall a pratiqué l'hémoculture chez 14 cobayes inoculés avec des produits tuberculeux humains, sacrifiés entre le 51e et le 101e jour après l'inoculation, le sang étant ensemencé sur milieu liquide synthétique additionné de sérum de bœuf. Le sang de 6 autres cobayes sacrifiés entre 100 et 154 jours a été ensemencé sur milieu à l'œuf de Dorset; enfin, pour 21 cobayes, sacrifiés entre 53 et 137 jours, le sang a été ensemencé selon la méthode de Löwenstein. Dans un seul cas de la première série, la culture a été positive, mais n'a pas pu être repiquée sur milieu de Dorset. Sur 63 hémocultures de cobayes tuberculeux, pratiquées sur milieu liquide de Dreyer et Vollum, une seule a été positive, le bacille isolé, ayant été repiqué et cultivé ensuite sur milieu à l'œuf de Dorset.

Dreyer et Vollum trouvent l'hémoculture positive dans un grand pourcentage chez des cobayes inoculés par voie sous-cutanée, intra-péritonéale ou intra-veineuse, quelle que fût la virulence du germe, les cultures étant toujours pratiquées avec du sang prélevé à l'autopsie après la mort naturelle de l'animal. Sur 182 cobayes examinés, ils ont eu 160 résultats positifs, soit 87,9 %. Chez les cobayes préalablement vaccinés et dont la résistance à l'infection s'est montrée accrue (appréciée à la longueur de la survie), la bacillémie a été moins fréquente (70 %); au contraire, quand la vaccination n'a fait que sensibiliser l'animal en hâtant l'issue fatale de l'infection, la bacillémie a été rencontrée dans une plus forte proportion (96 %).

Gaeta n'a eu que des résultats négatifs dans ses essais d'hémoculture chez les animaux infectés.

Axen n'a eu aucun résultat positif chez 26 cobayes tuberculeux, le sang ayant été récolté par ponction du cœur pendant la vie des animaux, chez certains à plusieurs reprises, et ensemencé selon la technique de Löwenstein.

Proca a obtenu en utilisant son procédé de culture, par l'ensemencement du sang prélevé après la mort de l'animal (cobaye),

5 fois une culture abondante; dans 3 cas, les bacilles mis en évidence par l'examen microscopique se sont arrêtés dans leur développement, et 4 fois les résultats ont été négatifs. Sur une dizaine d'échantillons de 1 centimètre cube chacun, de sang prélevé sur l'animal vivant (oreille), 72 jours après l'infection, une seule fois l'hémoculture a été abondante et repiquable en série ; au microscope, le développement (zooglées filamenteuses) était appréciable dès le 18e jour.

Tomesco a trouvé, par la méthode de Löwenstein, chez le chien, des bacilles dans le sang aux différents stades de l'infection tuberculeuse, tant pour les animaux infectés par voie intra-veineuse que pour ceux infectés par voie digestive. Chez les chiens inoculés par voie intra-veineuse, on constate une bacillémie permanente avec un affaiblissement d'intensité entre le 20e et le 30e jour. Chez les chiens infectés *per os,* le moment de l'apparition de la bacillémie a varié dans les 3 cas étudiés. Elle devient permanente du 7e au 8e jour, ayant une période d'affaiblissement d'intensité du 20e au 30e jour. Dans deux cas, la bacillémie a pu être mise en évidence, le premier et le deuxième jour. Une seule fois, les cultures ont été macroscopiques pour une hémoculture pratiquée 5 jours avant la mort de l'animal; dans tous les autres cas, il s'agissait seulement de microcultures, la plus précoce après 15, la plus tardive après 60 jours. La transplantation de ces microcultures a été négative.

Dans les trois hémocultures pratiquées après la mort de l'animal, au contraire, toutes les cultures étaient macroscopiques; elles ont apparu après 18, 21 et 27 jours.

*
**

Au cours de ces recherches, aussi bien qu'à l'occasion de celles bien plus nombreuses destinées à vérifier les résultats obtenus chez l'homme par Löwenstein, de nombreuses variantes de la méthode de ce dernier auteur, ainsi que d'autres procédés de récolte du sang et d'autres milieux de culture, ont été proposés par différents auteurs.

Entre autres, ont retenu notre attention et nous ont paru particulièrement dignes d'intérêt, en dehors de la méthode de Löwenstein, les procédés de Kirchner avec milieux solides et liquides, et le procédé de Proca utilisant un milieu liquide.

Dans les lignes qui suivent, nous exposerons brièvement la technique de ces procédés.

I. — *PROCÉDÉ DE LÖWENSTEIN*

Récolte du sang. — On récolte par ponction aseptique, veineuse ou cardiaque, 5 à 10 centimètres cubes de sang que l'on recueille dans 1 à 2 centimètres cubes de citrate de soude à 10 %. On le verse dans un tube de centrifuge, on ajoute de l'eau distillée jusqu'à hémolyse complète et on centrifuge à grande vitesse 10 à 15 minutes. On répète cette opération deux à trois fois jusqu'à décoloration complète du dépôt de centrifugation que l'on ensemence à la pipette à la surface des milieux. L'hémolyse peut être favorisée en employant pour le premier lavage, au lieu d'eau distillée, une solution d'acide acétique à 5 %. Lorsque l'on n'est pas sûr de l'asepsie du sang récolté, il est recommandé de traiter le sang après déhémoglobinisation complète, avec une solution d'acide sulfurique à 15 %, dont on se débarrasse par un nouveau lavage après un contact de 10 à 15 minutes.

Milieu de Löwenstein. — On prépare :

a) Une solution à base d'asparagine de la composition suivante :

Asparagine Merck	3 gr.
Phosphate de K bibasique	1 —
Citrate de Na tribasique	1 —
Sulfate de magnésium cristallisé	1 —
Glycérine pure	60 —
Eau distillée	1.000 —

Stériliser deux heures dans un ballon d'abord à la vapeur fluente dans un autoclave ouvert, à 100 %; au bout de deux heures, garder encore un quart d'heure à 110°. Conserver à la température du laboratoire.

b) Une solution à 2 % de rouge Congo (Grübler), ou bien de vert de malachite pulvérisé, dans de l'eau distillée. A cette fin, pulvériser fin le colorant, faire la solution dans un mortier et stériliser à 120°.

A 300 centimètres cubes de solution d'asparagine, on ajoute, dans un ballon d'un litre, 10 centimètres cubes du mélange suivant :

Fécule de pomme de terre	10 gr.
Eau	1 cc.

On maintient le mélange une heure à 100° (vapeur fluente) en agitant de temps en temps (ajouter des perles). Après une heure de chauffage, laisser refroidir à 50°.

Prendre 8 œufs entiers et 2 jaunes d'œufs, ajouter à la solution précédente et agiter.

Ajouter 10 centimètres cubes de jus de tomate (vitamine) préparé de la manière suivante :

Prendre 1 kilogramme de tomates, couper en morceaux, mettre dans une casserole sans eau, chauffer pour faire rendre le jus, filtrer sur gaze, passer à la bougie L^2 et conserver à la glacière.

Filtrer le tout sur gaze dans un grand entonnoir.

Ajouter 10 centimètres cubes de la solution stérile de rouge de Congo ou vert de malachite. Diviser en tubes, incliner, coaguler. A cette fin, chauffer une demi-heure à 75°, laisser 24 heures à la température du laboratoire, nouveau chauffage à 75°.

II. — *PROCÉDÉ DE KIRCHNER*

a) Récolte du sang. — On prélève 3 centimètres cubes de sang par ponction aseptique de la veine cubitale chez l'homme, de la veine marginale ou du cœur chez le lapin, du cœur chez le cobaye. Le sang est recueilli dans un tube de centrifuge contenant 1 centimètre cube de citrate de soude à 5 %. On centrifuge à vitesse modérée et l'on décante le plasma. On ajoute 25 centimètres cubes d'eau distillée stérile, en agitant jusqu'à hémolyse complète et on laisse reposer 30 minutes. Ajouter ensuite, en agitant, 1,5 cc. d'acide sulfurique à 0,1 %, et laisser reposer 10 minutes; il se produit un trouble léger du liquide qui, jusqu'alors, était complètement clair, trouble qui, à l'occasion de la centrifugation suivante, constituera un léger dépôt au fond du tube. Le but de cette opération est d'entraîner, avec ce précipité, tous les bacilles. Après une nouvelle centrifugation, on décante le liquide surnageant et on ensemence le dépôt. Quand on ensemence du sang humain, il faut augmenter légèrement la quantité d'acide sulfurique. Lorsque l'on a des doutes sur la stérilité du produit à ensemencer, on reprend le précipité avec 3 centimètres cubes d'une solution à 10 % d'acide sulfurique, que l'on ajoute goutte à goutte, en agitant; après un contact de 2 minutes, on ajoute 12 centimètres cubes d'eau distillée ; on centrifuge, décante et ensemence le dépôt.

b) Milieux de culture. — Les milieux de culture employés par Kirchner sont des milieux solides et des milieux liquides. Ces derniers lui paraissent particulièrement recommandables; aussi, en préconise-t-il l'emploi constant à côté des premiers. Comme milieu solide, il donne la préférence à celui de Löwenstein que nous avons décrit plus haut, comme milieu liquide il recommande particulièrement, lorsqu'il s'agit d'hémoculture, l'un des différents milieux liquides qu'il a mis au point, à savoir le milieu désigné sous l'abréviation de Minasser (Mineralsalz — Asparaginlösung mit Serumzusatz).

La composition de ce milieu est la suivante :

Phosphate disodique	3,6 gr.
Phosphate monopotassique	4 —
Sulfate de magnésium	0,6 —
Citrate de soude	2,5 —
Asparagine	5 —
Eau distillée	1.000 —

A 90 parties de cette solution stérilisée à l'autoclave, on ajoute 10 parties de sérum animal (cheval, lapin, homme, etc.) qui peut être employé frais ou inactivé. On répartit en tubes et on y ensemence quelques anses du dépôt de la centrifugation du sang.

III. — *PROCÉDÉ DE PROCA*

Les milieux liquides ont été recommandés par le professeur Proca, pour l'isolement du bacille de Koch, aussi bien des crachats que du sang.

Dans le premier cas, la technique recommandée est la suivante.

On prélève 1 centimètre cube de l'échantillon à examiner et on mélange intimement l'expectoration dans un tube à essai, avec 6 centimètres cubes d'eau physiologique à laquelle on a ajouté 0,2 cc. d'une solution d'acide sulfurique à 3 %; cette eau physiologique sera désignée par l'abréviation Ac. Les tubes contenant les suspensions acides sont portés à l'étuve à 38°, où on les laissera séjourner 2 heures. On procède ensuite à un premier ensemencement dans 8 centimètres cubes de liquide de Sauton, qui reçoit tout le dépôt de mucosités blanchâtres occupant le fond des tubes; parfois, des mucosités bulleuses nagent à la surface du liquide, il faut les aspirer à la pipette pour les transporter dans le milieu de Sauton. Les tubes ensemencés sont

maintenus 24 heures à l'étuve, d'où on les retire pour procéder à un deuxième ensemencement dans du Sauton nouveau (8 centimètres cubes par tube), dans lequel ont transporte toutes les mucosités du premier ensemencement.

Pour cette seconde opération, qui reste définitive, le milieu liquide qui convient le mieux est le liquide de Sauton au sang « stabilisé ».

On prépare d'abord le sang stabilisé en mélangeant 1 centimètre cube de sang frais de lapin ou de cobaye avec 6 centimètres cubes de liquide Ac. ; les tubes sont portés pour une heure à 38° et ensuite conservés à la glacière. Au moment de l'emploi, on ajoute, au Sauton simple, le précipité qui a pris naissance lorsqu'on a mélangé, avec 8 centimètres cubes de Sauton, 1 centimètre cube de la dilution acide de sang (liquide, ou parfois caillot mou de couleur chocolat). Le précipité floconneux de sang doit être emprunté à un mélange de 1/9e de Sauton-sang acide qui a séjourné au moins 24 heures à 38°.

Une condition indispensable pour assurer le résultat des ensemencements est d'employer toujours des crachats frais, le plus tôt possible après l'émission.

Pour l'examen du sang, chez le cobaye tuberculeux, on prélève à l'autopsie le sang du cœur, en partie déjà coagulé (0,5 à 1 centimètre cube), et on le mélange avec 6 centimètres cubes de liquide Ac.; on laisse les tubes une heure à 38°, et ensuite on répartit le mélange à raison de 1 centimètre cube par tube dans du Sauton simple. Après 24 heures d'étuve, le précipité floconneux qui s'est déposé dans ces premiers tubes est porté dans du Sauton nouveau (8 centimètres cubes), en ayant soin de ne pas introduire avec le précipité plus de 1 centimètre cube de liquide.

On peut se dispenser de ce deuxième temps du procédé lorsqu'on dispose d'au moins 0,5 cc. de sang pour la préparation de la suspension acide; dans ce cas, on réduit à 0,2 cc. par tube la quantité de suspension employée pour le premier ensemencement.

Il arrive que la suspension acide de sang ne donne pas de précipité dans le milieu de Sauton, le liquide coloré alors en brun reste transparent, comme si on lui avait ajouté du sang hémolysé; dans les deux cas, où le phénomène s'est produit, les ensemencements ont été négatifs.

Par des examens répétés au cours du développement, on surprend quelquefois, dès le 6e jour, l'apparition au microscope de

zooglées filamenteuses dans le sédiment; plus souvent, il faut attendre 12 à 18 jours, jusqu'au développement des zooglées, d'ailleurs encore clairsemées à ce moment.

Dans les cas d'hémoculture positive, au bout de 4 à 5 semaines, on constate à l'œil nu des petits grains ou flocons blanchâtres, à la surface, ou parfois au sein même du dépôt de sang précipité. Rarement, on voit apparaître à la longue un voile recouvrant le milieu et envahissant la paroi des tubes; le liquide clair reste ordinairement incolore.

Sur une série de plusieurs tubes ensemencés dans un cas donné, il n'y a généralement qu'un seul qui se montre fertile.

RECHERCHES PERSONNELLES

Nos recherches ont eu en première ligne le but d'établir la valeur comparative des différents procédés d'hémoculture. A cette fin, nous avons étudié les procédés de Löwenstein, Kirchner et Proca.

Dans quelques cas, nous avons ensemencé le sang récolté et préparé par le procédé de Löwenstein ou de Kirchner, sur le milieu de Petragnani ou un milieu à l'œuf et sang. Dans quelques autres cas, le sang citraté a été introduit dans du liquide de Sauton et ensemencé ensuite sur Löwenstein, après un séjour de 10 à 12 jours à 38° (procédé recommandé par Saenz).

Enfin, dans un certain nombre de cas où nous avons utilisé le procédé de Proca, nous avons ensemencé une série de 5 tubes avec 0,2 cc. du mélange acide-sang, et 5 autres avec la même quantité de ce mélange, mais après centrifugation préalable.

Comme animal d'expérience, nous nous sommes servis du cobaye. Le bacille employé était un bacille bovin, souche Vallée, à la dose de 1 milligramme, inoculé par voies intra-veineuse, intra-péritonéale et sous-cutanée; les animaux étaient saignés par ponction cardiaque, après 24 heures, 3 jours, 5 jours, 10 jours et ensuite à des intervalles variés jusqu'au 51e jour. Dans une seconde série d'expériences, nous avons procédé de la même manière, à cette différence près qu'il s'agissait de cobayes qui avaient reçu, deux mois plus tôt, deux injections à deux semaines d'intervalle, de 1 centigramme de B. C. G.

PREMIÈRE SÉRIE

Cobayes inoculés avec 1 milligramme de bacilles tuberculeux de la souche Vallée : 5 par voie sous-cutanée, 5 par voie intra-péritonéale et 5 par voie intra-veineuse.

Première expérience.

Saignée par ponction du cœur après 24 heures, 3, 5 et 10 jours; le sang récolté est ensemencé de la manière suivante :

Après 24 heures :

Cobaye 185 (intra-veineux) : 7 centimètres cubes de sang sont recueillis dans du citrate à 10 %; 4 centimètres cubes sont traités selon la technique et ensemencés sur le milieu de Löwenstein; 3 centimètres cubes sont introduits dans un tube contenant le milieu de Sauton. Après 12 jours de séjour à l'étuve, on procède à l'ensemencement de ce mélange selon la technique et sur le milieu de Löwenstein.

Cobaye 176 (intra-péritonéal) : 3 centimètres cubes, récoltés dans du citrate, sont portés dans du Sauton et ensemencés 12 jours plus tard (séjour à l'étuve) sur Löwenstein.

Cobaye 189 (intra-péritonéal) : 9 centimètres cubes de sang, dont 4 ensemencés directement sur L. et 5 après passage (12 jours d'étuve) sur Sauton.

Cobaye 183 (sous-cutané) : 4,5 cc. ensemencés directement sur L.

Cobaye 182 (sous-cutané) : 4,5 cc. ensemencés sur L. après passage (12 jours d'étuve) sur Sauton.

Après 3 jours :

Cobayes 197 (intra-veineux), *188* (intra-péritonéal), *195* (sous-cutané), *183* (sous-cutané) : saignés à raison de 5 à 8 centimètres cubes ; ensemencements directs sur L. et après passage sur Sauton.

Après 5 jours :

Cobayes 198 (intra-veineux), *179* (intra-péritonéal), *180* (sous-cutané), dont le sang a été ensemencé : pour la première série

sur L., seulement après passage sur *Sauton* (13 jours); pour les deux autres, aussi bien directement sur L. qu'après passage sur Sauton.

Après 10 jours :

Cobayes 181 (intra-veineux), *184* (intra-péritonéal), *180* (sous-cutané), *178* (sous-cutané), dont le sang a été ensemencé, pour les trois premiers, aussi bien directement sur L. qu'après passage dans du Sauton.

RÉSULTATS DES CULTURES

Après 24 heures. — L'hémoculture a été positive chez le cobaye inoculé par voie intra-veineuse ; macrocolonies d'abord isolées, ensuite s'étendant en nappe sur 2 des 3 tubes de L. (1) et sur tous les trois tubes de S. L., après 30 à 60 jours de séjour à l'étuve.

Chez les deux cobayes inoculés dans le péritoine, les cultures ont été positives sur tous les tubes; mais seulement, à l'examen microscopique, aucune n'a donné de macrocolonies.

Même résultat pour les deux cobayes inoculés sous la peau.

Après 3 jours. — Nombreuses macrocolonies sur tous les tubes ensemencés avec le sang du cobaye intra-veineux, d'abord isolées, ensuite s'étendant en nappe (apparues entre 22 à 51 jours); pour les cobayes intra-péritonéal et sous-cutané, seulement des microcolonies sur tous les tubes.

Après 5 jours. — Pour le cobaye intra-veineux, macrocolonies nombreuses, d'abord isolées, mais bientôt en nappe sur tous les tubes (apparues entre 20 à 51 jours). Chez le cobaye intra-péritonéal, macrocolonies sur tous les tubes à L. (après 30 jours), microcolonies sur les tubes à S. L. ; pour le cobaye sous-cutané, microcolonies seulement sur L., macrocolonies isolées sur 2 des 3 tubes à S. L., microcolonies sur le troisième.

Après 10 jours. — Macrocolonies isolées (1-2) sur les 3 tubes à L. et sur un seul tube à S. L.; sur les deux autres, seulement microcolonies.

(1) Nous marquerons par L. les tubes ensemencés directement sur Löwenstein ; par S. L., ceux ensemencés après passage sur Sauton.

Pour le cobaye intra-péritonéal, macrocolonies en nappe sur les 3 tubes à L., microcolonies seulement sur les tubes à S. L.; pour les cobayes sous-cutanés, macrocolonies sur un tube S. L. pour chacun des deux (en nappe pour l'un, isolées pour l'autre); sur les 7 autres tubes, microcolonies.

Si nous totalisons les résultats par rapport aux méthodes d'hémoculture employées, nous avons :

Sur 35 tubes ensemencés directement sur Löwenstein :

17 tubes à macrocolonies.....	48,6 %
18 tubes à microcolonies.....	51,4

Sur 45 tubes ensemencés sur Löwenstein, après passage sur Sauton :

12 tubes à macrocolonies.....	26,6 %
33 tubes à microcolonies.....	73,3

Quoique, dans certains cas, nous ayons obtenu des macrocolonies sur Löwenstein après passage sur Sauton, il n'en est pas moins vrai que le contraire s'est produit plus souvent, le pourcentage de macrocolonies après ensemencement direct ayant été plus fort qu'après passage sur Sauton. Nous pensons donc que les avantages de cette méthode ne sont pas suffisamment évidents pour justifier son emploi courant; aussi, pour nos expériences suivantes, y avons-nous renoncé.

Un autre fait qui, dès cette première expérience, nous a frappés, a été le grand nombre de tubes dans lesquels nous avons mis en évidence des microcultures (présence de bacilles acido-résistants à l'examen microscopique) sans qu'ultérieurement il y ait eu développement de cultures macroscopiques, et même sans que, plus tard, à l'occasion de nouveaux examens, nous ayons retrouvé des bacilles.

Deuxième expérience.

8 cobayes survivants, ayant servi à la première expérience, ont été à nouveau saignés à des intervalles variés du 30e au 47e jour.

Pour 2 cobayes : 189 (intra-péritonéal, saigné le 30e jour) et 198 (intra-veineux, saigné le 33e jour), le sang (10 centimètres cubes) a été recueilli dans du citrate de soude à 10 %; une partie est simplement centrifugée et le dépôt ensemencé directement sur Löwenstein; le reste est hémolysé et une partie du dépôt ense-

mencée après une première centrifugation; une seconde après une deuxième, et le reste enfin après une troisième centrifugation, chacune bien entendu précédée d'un lavage à l'eau distillée.

Pour les 3 autres cobayes (saignés entre le 36e et le 47e jour), une partie du sang a été traitée selon la technique de Löwenstein et une partie du dépôt ensemencée sur milieu de Löwenstein, une autre sur Sauton; l'autre moitié du sang a été traitée selon la technique de Kirchner et ensemencée sur milieux de Löwenstein, de Sauton, et milieu à l'œuf et sang humain.

Pour les 3 derniers enfin, le sang de deux d'entre eux a été traité seulement par la méthode de Kirchner, et celui du troisième seulement par celle de Löwenstein.

RÉSULTATS

Cobaye 189 (intra-péritonéal, saigné le 30e jour) : cultures macroscopiques dans 3 tubes sur 12, apparaissant après un mois; microcultures dans 3 tubes.

Cobaye 198 (intra-veineux, saigné après le 33e jour) : macrocultures dans 6 tubes sur 12, apparaissant entre 21 et 48 jours ; microcultures dans 3 tubes.

Cobaye 180 (sous-cutané, saigné le 36e jour) : macrocolonie dans 1 tube sur 12 (après 18 jours).

Cobaye 179 (intra-péritonéal, saigné le 40e jour) : macrocolonies dans 3 tubes sur 12 (après 31 jours); microcolonies dans 1 tube.

Cobaye 188 (intra-péritonéal, saigné le 41e jour) : microcolonies dans 3 tubes sur 12.

Cobaye 183 (sous-cutané, saigné le 43e jour) : macrocolonies dans 1 tube sur 12; microcolonies dans 1 seul tube.

Cobaye 182 (sous-cutané, saigné le 43e jour) : microcolonies dans 2 tubes sur 12.

Cobaye 195 (sous-cutané, saigné le 43e jour) : microcolonies dans 4 tubes sur 12.

Si nous comparons les résultats, quant à la méthode de traitement du sang, et en premier lieu au point de vue de l'importance que Löwenstein attribue à la déhémoglobinisation, à fin de quoi il recommande les trois lavages successifs, nous constatons qu'avec le sang ensemencé sans lavage nous avons 2 macrocultures et 22 microcultures sur 6 tubes; après un seul lavage,

1 seule microculture sur 6 tubes; tandis que, après deux et trois lavages, nous avons 4 macrocultures et 1 microculture sur 6 tubes. On obtient donc, à conditions par ailleurs égales, un nombre double d'hémocultures positives, après deux et trois lavages, qu'avec un seul ou sans lavage du tout.

En ce qui concerne, maintenant, la comparaison entre les résultats obtenus avec du sang traité selon la technique de Kirchner et celui traité selon celle de Löwenstein, l'un et l'autre ensemencés sur les mêmes milieux de culture, nous avons :

Pour le sang traité selon Löwenstein, sur 48 tubes	2 macrocultures....	4,16	%
	7 microcultures.....	15	
	Total.....	19,16	
Pour le sang traité selon Kirchner, sur 30 tubes	3 macrocultures....	10	%
	4 microcultures.....	13	
	Total.....	23	

Il y a donc avantage pour la méthode de Kirchner; si, cependant, nous tenons compte du nombre de tubes ensemencés avec du sang traité incomplètement d'après Löwenstein (un seul ou pas de lavage), les résultats peuvent être considérés comme sensiblement égaux, à cette différence près que la méthode de Kirchner demande moins de manipulations que celle de Löwenstein.

En ce qui concerne les milieux de culture, il est à remarquer que tous les résultats positifs ont été obtenus sur milieu de L., à l'exception de deux (l'un sur Sauton, l'autre sur milieu au sang).

DEUXIÈME SÉRIE

2 cobayes vaccinés par 2 injections de 1 centigramme de B. C. G., à deux semaines d'intervalle, sont inoculés, deux mois plus tard, avec 1 milligramme de bacilles de la souche bovine Vallée, par voie sous-cutanée (4), intra-péritonéale (4) et intra-veineuse (4), en même temps que 4 cobayes témoins inoculés par voie sous-cutanée.

Troisième expérience.

La saignée des cobayes a eu lieu 24 heures, 3, 5 et 10 jours après l'inoculation. Le sang a été traité par la méthode de Kirchner et de Löwenstein. Pour cette dernière, nous avons encore une fois étudié l'importance du lavage; à cette fin, certains échan-

tillons ont été ensemencés après un, deux, ou trois lavages. Les ensemencements ont été faits sur milieu de Löwenstein, de Petragnani et de Kirchner.

RÉSULTATS

Après 24 heures :

Cobaye 131 (intra-péritonéal) : microcultures dans 9 tubes sur 12, apparaissant entre 14 et 35 jours.

Cobaye 150 (témoin sous-cutané) : microcultures dans 10 tubes sur 12, après 35 jours.

Cobaye 126 (sous-cutané) : macrocultures dans 4 tubes sur 18, entre le 12e et 15e jour; microscopiques dans 5 tubes, après 19 à 35 jours.

Cobaye 128 (intra-veineux) : macrocultures dans 11 tubes sur 18, après 12 à 61 jours; microcultures dans 3 tubes, après 12 à 15 jours.

Après 3 jours :

Cobaye 137 (témoin sous-cutané) : macroculture dans 1 tube sur 18, après 33 jours; microscopiques dans 12 tubes, après 21 à 59 jours.

Cobaye 177 (intra-péritonéal) : tous les tubes stériles.

Cobaye 110 (intra-veineux) : macrocultures dans 6 tubes sur 12, après 37 à 59 jours; microcultures dans 6 tubes, après 15 à 59 jours.

Cobaye 136 (sous-cutané) : macroculture dans 1 tube sur 12, après 35 jours ; microcultures dans 5 tubes, après 19 à 29 jours.

Après 5 jours :

Cobaye 130 (sous-cutané) : macroculture dans 1 tube sur 12, après 35 jours; microcultures dans 6 tubes, après 37 à 57 jours.

Cobaye 147 (témoin, sous-cutané) : microcultures dans 5 tubes sur 12, après 37 à 57 jours.

Cobaye 129 (intra-péritonéal) : macroculture dans 1 tube sur 12, après 36 jours; microscopiques dans 4 tubes, après 37 à 57 jours.

Cobaye 193 (intra-veineux) : macrocultures dans 8 tubes sur 12, après 20 à 37 jours.

Après 10 jours :

Cobaye 142 (témoin sous-cutané) : macrocultures dans 2 tubes sur 12, après 30 à 52 jours ; microcultures dans 5 tubes, après 18 jours.

Cobaye 146 (intra-veineux) : macrocultures dans 6 tubes sur 12, après 30 jours; microcultures dans 4 tubes, après 18 à 28 jours.

Cobaye 115 (intra-péritonéal) : microcultures dans 2 tubes sur 6, après 38 jours.

Cobaye 127 (sous-cutané) : microcultures dans 7 tubes sur 12, après 48 à 68 jours.

Au point de vue des méthodes de traitement du sang, nous avons :

Avec la méthode de Löwenstein, sur 120 tubes	23 macrocultures....	19,6 %
	44 microcultures.....	36,6
	Total.....	55,6
Avec la méthode de Kirchner, sur 90 tubes.	18 macrocultures....	20 %
	46 microcultures.....	51,1
	Total.....	71,1

Avec la méthode de Löwenstein, en faisant varier le nombre des lavages à l'eau distillée :

Un seul lavage et ensemencement sur milieu de Löwenstein, sur 8 tubes....	3 macrocultures....	33 %
	2 microcultures.....	25
	Total.....	58
Un seul lavage et ensemencement sur milieu de Petragnani, sur 8 tubes....	2 macrocultures....	25 %
	1 microculture	12,5
	Total.....	37,5
Deux lavages et ensemencement sur milieu de L., sur 8 tubes.....	2 macrocultures....	25 %
	5 microcultures.....	62
	Total.....	87
Trois lavages et ensemencement sur milieu de L., sur 54 tubes.....	18 macrocultures....	33 %
	23 microcultures.....	42
	Total.....	75
Trois lavages et ensemencement sur milieu de P., sur 54 tubes.....	13 macrocultures....	24 %
	18 microcultures.....	33
	Total.....	57

Quant aux résultats comparatifs, selon les milieux de culture employés, nous avons :

Milieu de Löwenstein, sur 70 tubes.....	23 macrocultures....	32,8 %
	31 microcultures.....	44,3
	Total.....	77,1

Milieu de Petragnani, sur 70 tubes.....	18 macrocultures....	25,7 %
	22 microcultures.....	31,4
	Total.....	57,1
Milieu de Kirchner, sur 70 tubes.....	39 microcultures.....	55,6 %

En somme, nous trouvons que :

Le traitement du sang, selon le procédé de Kirchner, nous a donné une plus grande proportion de résultats positifs.

Le lavage du sang, dans le procédé de Löwenstein, a une importance certaine; mais deux lavages nous ont paru suffisants, les résultats étant supérieurs à ceux obtenus après un seul et même après trois lavages.

En ce qui concerne les milieux, celui de Löwenstein nous a fourni le plus grand nombre de résultats positifs (77,1 %) ; ensuite, celui de Petragnani (57,6 %) et de Kirchner (55,6 %).

Quatrième expérience.

6 cobayes, ayant servi à l'expérience précédente, sont à nouveau saignés à différents intervalles entre 10 et 51 jours. Le sang a été traité par le procédé de Kirchner, et ensemencé sur milieux de Löwenstein, Petragnini et Kirchner (liquide); 1 centimètre cube a été recueilli dans la solution Ac. de Proca, et ensemencé selon le procédé de cet auteur, sur Sauton; 5 tubes, avec 0,2 cc. de la solution 1/5e (sang, 1 cc.; sol. Ac., 4 cc.) ; le reste a été centrifugé et le dépôt ensemencé, à raison de 0,2 cc., dans un tube de Sauton.

RÉSULTATS

Cobaye 150 (témoin sous-cutané) : saigné le 26e jour; microcultures dans 11 tubes sur 16, après 26 à 46 jours.

Cobaye 136 (vacciné sous-cutané) : saigné le 29e jour; microcultures dans 13 tubes sur 16, après 22 à 33 jours.

Cobaye 131 (vacciné intra-péritonéal) : saigné le 32e jour ; microcultures dans 7 tubes sur 16, après 20 à 30 jours.

Cobaye 193 (vacciné intra-péritonéal) : saigné le 35e jour ; macrocultures dans 5 tubes sur 16; microscopiques dans 5 tubes, après 17 à 37 jours.

Cobaye 136 (vacciné sous-cutané) : saigné le 48e jour; macrocultures dans 8 tubes sur 16, après 4 à 14 jours.

Cobaye 129 (vacciné intra-péritonéal) : saigné le 51e jour ; microcultures dans 7 tubes sur 16, après 11 à 21 jours.

Si nous résumons maintenant ces résultats dans un tableau comparatif, selon les méthodes mises en œuvre, nous avons :

Procédé de Kirchner, milieu de Löwenstein, sur 12 tubes	8 macrocultures... 1 microculture....	73 %
Procédé de Kirchner, milieu de Petragnani, sur 12 tubes	2 macrocultures... 4 microcultures....	50 %
Procédé de Kirchner, milieu de Kirchner, sur 12 tubes	1 macroculture.... 6 microcultures....	50 %
Procédé de Proca (ensemencement direct), sur 30 tubes	1 macroculture.... 16 microcultures....	56,6 %
Procédé de Proca (ensemencement après concentration), sur 30 tubes	3 macrocultures... 16 microcultures....	63,3 %

d'où on pourrait déduire le classement suivant :

1° Milieu de Löwenstein, 73 % de résultats positifs ; 2° milieu de Proca (avec concentration), 63,3 % ; 3° milieu de Proca (sans concentration), 56,6 % ; 4° et 5° milieux de Kirchner et Petragnani, 50 %.

D'autre part, si on fait le classement, en ne tenant pas compte du nombre des tubes ensemencés, mais des cobayes étudiés, on a un autre résultat (et cette classification nous paraît plus juste, étant donné que pour certaines méthodes, comme celle de Proca, le sang est réparti sur un plus grand nombre de tubes) qui donnerait la classification suivante :

1° Milieu de Proca, avec 6 cas positifs sur 6 ; 2° milieu de Kirchner, avec 5 cas positifs sur 6; 3° milieu de Löwenstein, avec 5 cas positifs sur 6 ; 4° milieu de Petragnani, avec 3 cas positifs sur 6.

A l'occasion de cette dernière expérience, nous devons relever le fait que, pour la première fois, nous avons obtenu des macrocultures, à dépôt net et caractéristique, avec le milieu liquide de Kirchner, et que, dans le milieu de Proca, nous avons eu dans 4 tubes, non seulement un dépôt grumeleux caractéristique, mais aussi, dans 3 d'entre eux, un voile, d'abord mince, ensuite épais, ayant tous les caractères de la culture en surface du bacille tuberculeux.

Avant de passer, maintenant, à l'exposé synthétique et critique de nos expériences, nous allons présenter, sous forme de tableau, les résultats des hémocultures par rapport à la voie d'inoculation, le moment de la saignée et la préparation des animaux (vaccinés ou non) :

Cobayes inoculés par voie intra-veineuse

a) *Témoins.*

Après 24 heures..	M 1	5/5	Après 10 jours..	M 1	3/3
	m			m	
— 3 jours...	M 1	6/6	— 33 — ..	M 1	6/12
	m			m	3/12
— 5 — ...	M 1	3/3			
	m				

b) *Vaccinés.*

Après 24 heures..	M 1	11/12	Après 5 jours..	M 1	8/12
	m			m	3/4
— 3 jours...	M 1	6/12	— 10 — ..	M	6/12
	m 1	6/6		m	4/6

Cobayes inoculés par voie intra-péritonéale

a) *Témoins.*

Après 24 heures..	M		Après 10 jours..	M 1	3/6
	m 2	3/3, 6/6		m	
— 3 jours...	M		— 27 — ..	M 1	3/12
	m 1	6/6		m	
— 5 jours...	M 1	3/6	— 40 — ..	M 1	3/12
	m	3/3		m	1/9
			— 41 — ..	M	
				m 1	1/12

b) *Vaccinés.*

Après 24 heures..	M		Après 32 jours..	M	
	m 1	9/12		m 1	5/16
Après 3 jours...	M		Après 35 jours..	M 1	5/16
	m		— 51 — ..	M	
— 5 — ...	M 2	1/12		m 1	8/16
	m	4/11			
— 10 — ...	M				
	m 1	2/6			

Cobayes inoculés sous la peau

a) *Témoins.*

Après 24 heures..	M 1	1/3	Après 10 jours..	M 3	1/3, 1/6, 2/12
	m 2	2/3, 10/12		m	2/2, 5/5
— 3 jours...	M 2	2/6, 1/12	— 36 — ..	M 1	1/12
	m 1	4/4, 11/11		m	
— 5 — ...	M 1	2/6	— 43 — ..	M 1	1/12
	m 1	4/4		m 3	1/11, 3/6, 2/12

b) *Vaccinés.*

Après 24 heures..	M 1	4/18	Après 10 jours..	M	
	m	3/8		m 1	7/12
— 3 jours...	M 1	1/12	— 29 — ..	M	
	m	5/12		m 1	13/16
— 5 — ...	M 1	1/12	— 48 — ..	M	
	m	6/12		m 1	8/16

Légende. — M = macrocultures ; m = microcultures. — Le chiffre qui suit la première lettre indique le nombre des cobayes ; la fraction indique la proportion des tubes positifs (dénominateur), par rapport aux négatifs (numérateur).

*
**

De nos recherches, nous pensons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

En ce qui concerne les méthodes de récolte et traitement du sang, le lavage du sang, recommandé par Löwenstein, paraît avoir un rôle incontestable ; nous avons toujours obtenu de meilleurs résultats avec le sang lavé; toutefois, deux lavages nous ont paru suffisants, les résultats ayant toujours été pareils, sinon supérieurs à ceux que l'on obtenait après un troisième lavage. Nous nous demandons même si c'est bien l'élimination complète de l'hémoglobine, dont la présence, selon Löwenstein, aurait une action empêchante sur le développement des bacilles, qui en est le facteur déterminant. Il se pourrait que le lavage soit utile pour d'autres raisons. En effet, Kirchner, à la suite de ses recherches, aboutit à la conclusion que les bacilles se trouvant généralement englobés dans les leucocytes, le but d'une bonne technique de préparation du sang serait de les libérer de leur enveloppe leucocytaire; aussi sa technique plus simple, ne comportant qu'une déplasmatisation et un seul lavage à l'eau acidulée, est-elle supérieure à la technique de Löwenstein, et nous a-t-elle donné un plus grand pourcentage de résultats positifs.

Pour ce qui est des milieux de culture, le milieu de Löwenstein nous a semblé être, parmi les milieux solides, un des meilleurs. Toutefois, nous croyons indiqué d'employer en même temps aussi un milieu liquide. Celui de Kirchner nous a donné parfois des résultats positifs, quand les milieux solides restaient stériles; leur emploi simultané nous semble donc tout à fait indiqué. Parmi les milieux liquides, celui recommandé par Proca, au Sauton ensemencé avec du sang stabilisé, se recommande particulièrement par la simplicité de la technique et la fréquence des résultats positifs, supérieure à celle obtenue avec les autres méthodes de culture. Surtout si l'on met en œuvre la modification que nous avons proposée, c'est-à-dire la concentration du mélange sang-solution acide, ce qui n'implique toujours qu'une seule centrifugation, tandis que la plus simple des autres techniques, celle de Kirchner, en demande encore deux, les résultats sont encore meilleurs et les cultures obtenues, parfois, d'une remarquable abondance.

Au point de vue de la bacillémie, nos recherches montrent que, chez le cobaye inoculé avec 1 milligramme de bacilles virulents, par différentes voies : sous-cutanée, intra-péritonéale ou intra-

veineuse, elle peut être mise en évidence par l'hémoculture à partir de 24 heures jusqu'à 51 jours, en tenant bien entendu compte aussi des résultats exclusivement microscopiques.

La bacillémie est massive et donnant constamment des macrocultures chez le cobaye inoculé dans la veine; en second lieu, c'est chez le cobaye inoculé sous la peau que nous avons eu la plus grande fréquence de macrocultures. La bacillémie a été plus discrète chez les animaux inoculés dans le péritoine, cette voie nous semblant être celle qui favorise le moins la dissémination des bacilles dans l'organisme.

Contrairement à ce que l'on pourrait attendre, la bacillémie est moins massive après, que pendant les dix premiers jours. L'inconstance de la bacillémie, à une phase avancée de l'infection, a d'ailleurs été constatée aussi par d'autres auteurs et mise en contraste avec le résultat toujours positif, et avec abondant développement de bacilles des hémocultures pratiquées après la mort de l'animal.

Il est possible que le sang de l'animal vivant ne soit pas un milieu particulièrement favorable au développement des bacilles de Koch à cause des propriétés empêchantes qui probablement s'y développent au cours de l'évolution de la tuberculose, et que ce n'est que dans la période terminale et peut-être après la mort que se produit un vrai pullulement des bacilles dans le sang. Des résultats pareils ont d'ailleurs été obtenus aussi chez l'homme où les hémocultures ont été loin de donner la fréquence, on pourrait presque dire la constance, des résultats positifs, obtenus par ensemencement du sang du cœur après la mort.

Chez les cobayes vaccinés, la bacillémie est plus discrète que chez les témoins. La différence a surtout été sensible dans le groupe de cobayes inoculés par voie intra-péritonéale. C'est dans ce groupe que nous avons enregistré le seul cas où l'hémoculture a été complètement stérile. Si, dans les autres cas, la différence n'a pas été plus importante, nous devons attribuer ce fait à la dose massive et à la grande virulence des germes employés à l'inoculation.

Un problème, enfin, qui reste à résoudre et à l'élucidation duquel nous tâcherons de contribuer par des recherches qui sont en cours, est celui de la signification des bacilles que l'on retrouve dans de nombreuses cultures, parfois même en assez grand nombre, et qui sont évidemment le produit d'un développement, puisqu'on ne les y trouve pas dès les premiers jours, mais qui pourtant sont arrêtés dans leur développement et n'aboutissent jamais à la formation de colonies macroscopiques.

BIBLIOGRAPHIE

AXEN (A.) : « Beitrag zur Frage des Tuberkelbazillennachweis in strömenden Blut. » (*Klin. Wschrift.*, II, 1932, p. 1949.)

CHIN KUK CHOUN : « Der kulturelle Tuberkelbazillennachweis zum Studium der Bacillämie bei der experimentellen Kanninchentuberkulose. » (*Beitr. Klin. Tbk.*, v. 83, 1933, p. 190.)

DREYER (G.) et WOLLUM (R.) : « Bacillemia in experimental tuberculosis together with experiments on mutation and pathogenicity of a human strain of B. tuberculosis. » (*Lancet*, I, 1931, p. 1015.)

GAETA (ANTONIO PIO) : « Ricerche sulle possibilita di coltivazione del bacille tubercolare dal sangue di animali infettati sperimentalmente. » (*Lotta tubercolare*, 1932, p. 1278 ; *Ctbt. f. Tbkforschung*, 1933, p. 507.)

KIRCHNER (O.) : « Die Leistunsfähigkeit der Tiefenkultur des Tuberkelbacillus bei Verwendung besonders geeigneter flüssiger Nährboden. » (*Zbt. f. Bakt. O.*, v. 124, 1932, p. 403.)

ID. : « Zur Methodik des Kulturellen Nachweises der Tuberkelbazillen im Blut. » (*Beitr. Klin. Tbk.*, v. 83, 1933, p. 183.)

KIRCHNER (O.) et LI (B.-D.) : « Untersuchungen über die Bedingungen der Züchtung von Tuberkelbazillen aus Blut. » (*Beitr. Klin. Tbk.*, v. 80, 1932, p. 460.)

LÖWENSTEIN (E.) : « Die Technik der Züchtung aus dem Blute. » (*Beitr. Klin. Tbk.*, v. 82, 1933, p. 697.)

MANTEUFEL (P.) et KOTTMANN (E.) : « Untersuchungen ueber die diagnostische Bewertung der Blutkultur bei experimenteller Kaninchentuberkulose. » (*Ztschft. f. Immunforschung*, v. 74, 1932, p. 29.)

NINNI (C.) et SANCTIS-MONALDI : « La courbe de la bacillémie tuberculeuse chez les cobayes vaccinés par le B. C. G. et éprouvés par voie péritonéale. » (*C. R. S. Biol.*, v. 113, 1933, p. 377.)

NINNI (C.) et GUALDI (A.) : « Influence du blocage du système réticulo-endothélial par le bleu de Trypan sur la bacillémie tuberculeuse expérimentale. » (*C. R. S. Biol.*, v. 112, 1933, p. 960.)

PROCA (G.) : « Sur l'isolement du bacille tuberculeux. » (*C. R. S. Biol.*, v. 110, 1932, p. 652.)

ID. : « Milieux liquides pour l'isolement du bacille tuberculeux. » (*Ibid.*, v. 114, 1933, p. 280.)

ID. : « Sur l'hémoculture du bacille tuberculeux. » (*Ibid.*, v. 114, 1933, p. 1203.)

SAENZ (A.) et COSTIL (L.) : « Caractères de la bacillémie à bacilles aviaires chez la souris inoculée par voie péritonéale. » (*C. R. S. Biol.*, v. 113, 1933, p 698.)

SCHAPIRO (L.) : « Untersuchungen ueber Bacillämie an Kaninchen nach Löwenstein's Methode. » (*Zbt. f. Tbk.*, v. 66, 1932, p. 248.)

TIEDEMANN (H.-J.) : « Ueber Züchtung von Tuberkelbazillen aus dem Blut von Menschen u. Tieren nach der Löwensteinschen Methode. » (*Beitr. Kin. Tbk.*, v. 81, 1932, p. 450.)

TOMESCU (V) : « Contributions à l'étude de la bacillémie tuberculeuse expérimentale chez le chien par la méthode de Löwenstein. » (*Archiva Veterinara*, v. 25, 1933.)

WEATHERALL (C.) : « Tubercle bacilli in the blood stream in human and animal tuberculosis. » (*Lancet*, I, 1932, p. 980.)

Le Gérant : J. CAROUJAT. NIORT. — IMP. TH. MARTIN